

ВЛИЯНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ

А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, О. А. Салазникова¹

Исследовано влияние гипогликемических препаратов и нового сахароснижающего средства РУ-254 на гемобиологические свойства крови крыс. Показано, что все изученные препараты снижают количество активированных АДФ тромбоцитарных форм, ингибируют агрегацию тромбоцитов, снижают вязкость крови как интактных, так и крыс со стрептозотоциновым диабетом. Соединение РУ-254 (дигидрохлорид 9 диэтиламиноэтил 2,3-дигидроимидазо (1,2-а)бензимидазол) проявило максимальную активность в комплексе гемореологических параметров. Гликлазид обладал меньшей эффективностью, но превосходил по активности глибенкламид и глидифен.

Ключевые слова: гипогликемические средства, агрегация тромбоцитов, вязкость крови, индекс агрегации эритроцитов

ВВЕДЕНИЕ

В лечении сахарного диабета (СД) большое значение придается не только стабилизации углеводного обмена, но и профилактике ангиопатий [1]. В связи с этим в последние годы большое внимание уделяется изучению гемореологических свойств у препаратов, применяющихся для лечения СД.

Многочисленные исследования [5, 9] свидетельствуют о том, что у больных СД II типа наблюдаются нарушения функционального и морфологического состояния тромбоцитов в виде повышения адгезии и агрегационной активности, изменений формы, размеров пластинок и их количества, ухудшаются реологические свойства крови. К сожалению, при устранении глюкозотоксичности не всегда происходит стабилизация гемореологических параметров. Поэтому наличие у гипогликемических препаратов прямого влияния на агрегацию тромбоцитов (АТ) и реологические свойства крови является весьма актуальным. Из известных гипогликемических препаратов подобное действие имеется только у гликлазида [13]. В Волгоградском государственном медицинском университете разработано новое гипогликемическое средство РУ-254 (см. рис. 1). В настоящее время по данному препарату завершена III фаза клинических испытаний [11]. Поэтому целью данного исследования явилось сравнение влияния РУ-254 и гипогликемических средств — гликлазида, глибенкламида, глидифена, используемых для лечения СД II типа, на гемореологические свойства крови.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе проведено сравнительное экспериментальное исследование влияния гликлазида (“Servier”,

Франция), глибенкламида (“Asta Medica AG”, Москва), глидифена (ВНЦ БАВ, Московская обл.) и препарата РУ-254 (НИИ ФОХ РГМУ) на гемореологические свойства крови. Эксперименты выполнены на 180 белых нелинейных крысах обоего пола, массой 180 – 250 г, содержащихся в условиях вивария (температура 22 – 24 °С, относительная влажность воздуха 40 – 50 %) с естественным световым режимом на стандартной диете (ГОСТ Р 50258–92), соблюдая правила лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3–96 и 1000.4–96), а также правила и Международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997).

Первую серию исследований проводили на интактных животных, находившихся в течение 18 ч до опыта на свободном питьевом режиме при полной пищевой депривации. Изучаемые препараты вводили в желудок крысам в дозе 5 мг/кг за 2 ч до исследования. На втором этапе экспериментов у крыс, содержащихся в течение 18 ч в условиях пищевой депривации со свободным доступом к воде, вызывали тяжелую форму экспериментального стрептозотоцинового диабета. Уровень глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора Глюкоза ФКД (Россия). Эксперименту подвергали животных с тяжелой формой СД, у которых развивалась стойкая гипергликемия с содержанием глюкозы более 18 ммоль/л. Забор крови для исследования осуществляли из нижней поллой вены наркотизированных животных.

Для комплексной оценки состояния реологических свойств крови и стандартизации результатов определяли следующие гемореологические параметры: количество АДФ-активированных тромбоцитов, АТ, вязкость крови (ВК), величину гематокрита. Влияние препаратов на АТ и количество активированных тромбоцитов изучали на двухканальном лазерном анализаторе агрегации (модель 220 LA) научно-производственной фир-

¹ Кафедра фармакологии (зав. — член корр. РАМН А. А. Спасов) Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 400131, Площадь Павших борцов, 1. E-mail: Farm@vLpost.ru

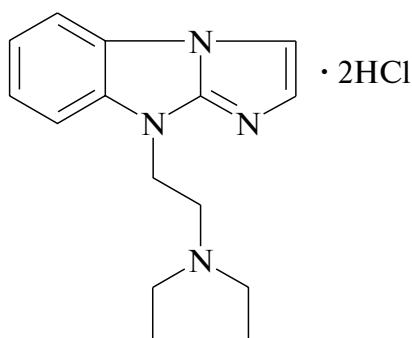


Рис. 1. Химическая структура соединения РУ-254 (дигидрохлорид 9 диэтиламиноэтил 2,3-дигидроимидазо (1,2-а)бензимидазол). Мол. масса 331,3.

мы «Биола» (Москва). Определение АТ проводили по методу G. Vorn (1962) в модификации З. А. Габбасова и др. [4]. В качестве индуктора АТ использовали АДФ фирмы «Reanal» (Венгрия) в конечной концентрации 5 мкМ. Количество АДФ-активированных тромбоцитов определяли с помощью специальной компьютерной программы [4] при одинаковом общем числе тромбоцитов в исследуемых образцах крови.

ВК определяли при помощи вискозиметра ротационного типа — анализатора крови реологического (АКР-2) [7] при трех скоростях сдвига (20с^{-1} , 100с^{-1} , 200с^{-1}), моделирующих различную интенсивность кровотока в сосудах. Влияние веществ на агрегацию эритроцитов оценивали по индексу агрегации эритроцитов (ИАЭ), рассчитываемому как отношение ВК при скорости сдвига 20с^{-1} к ВК при 200с^{-1} [3]. ВК определяли при стандартизированном гематокрите — 40 %. Величину гематокрита определяли по унифицированному методу, описанному В. В. Меньшиковым [10].

Статистическую обработку результатов проводили в электронной таблице Excell 5.0 с использованием *t*-критерия Стьюдента и парного критерия Вилкоксона при помощи пакета статистических программ программного обеспечения Microsoft Excell 2006.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии исследований, проводившихся на интактных животных, установлено, что все изучаемые препараты обладали антиагрегантной активностью. Наибольшую способность достоверно предотвращать АТ, индуцированную АДФ, проявили гликлазид и соединение РУ-254, их эффект составил 70,14 и 69,73 % соответственно (табл. 1). Глидифен и глибенкламид проявили равноэффективное действие на АТ, но их эффект значительно уступал вышеуказанным препаратам. Все вещества снижали число активированных форм тромбоцитов, но наибольшую активность проявило соединение РУ-254.

При анализе влияния изучаемых веществ на показатель ВК при различных скоростях сдвига обнаружено недостоверное снижение данного показателя у всех

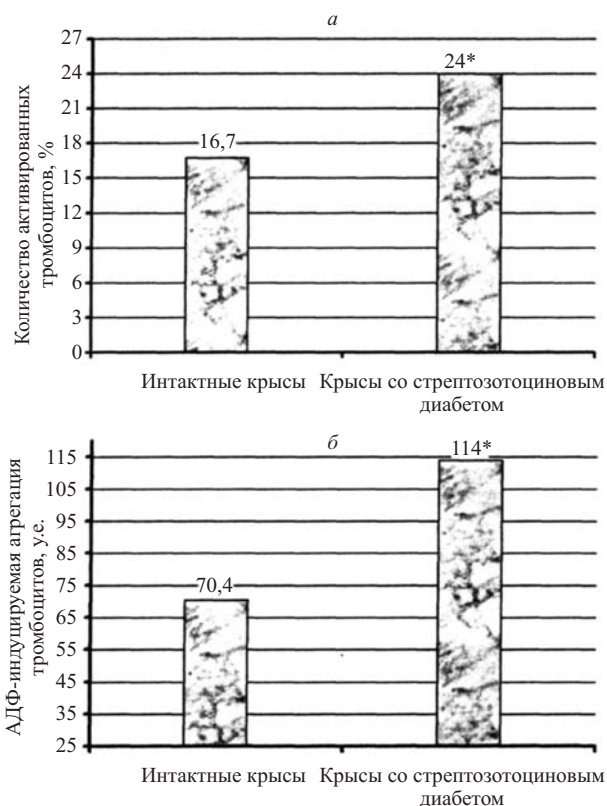


Рис. 2. Изменения количества активированных тромбоцитов (а) и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (б) крови крыс с стрептозоточиновым диабетом по сравнению с интактными животными.

* — данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$).

соединений при высоких скоростях сдвига и статистически значимое снижение при скорости сдвига 20с^{-1} (табл. 2). Под влиянием известных гипогликемических средств и соединения РУ-254 отмечено также недостоверное снижение ИАЭ относительно контроля.

Кроме того, проведенные нами ранее исследования по поводу биологической активности соединения РУ-254 показали, что данное вещество ингибирует АТ, вызванную различными индукторами агрегации, и подавляет биологический синтез тромбоксана А₂ [12].

Известно, что при нарушении углеводного обмена наблюдается повышение АТ и ухудшение ВК (6,9). Поэтому во второй серии экспериментов проводили исследования на животных с СД. При исследовании образцов крови больных крыс в сравнении с интактными животными было выявлено достоверное повышение ВК при всех скоростях сдвига, что свидетельствует об ухудшении реологических свойств крови у крыс с гипергликемией. Исходные показатели АТ и количества активированных их форм при СД значительно превышали их в норме (рис. 2).

Введение крысам с экспериментальным диабетом соединения РУ-254 приводило к снижению патологической АТ на 84 % ($p < 0,05$) (табл. 1). Антиагрегантная активность гликлазида немного уступала назван-

Таблица 1. Влияние препаратов на АДФ-индуцируемую (5 мкМ) агрегацию тромбоцита и количество активированных тромбоцитов крови интактных крыс и крыс со стрептозотоциновым диабетом ($M \pm m$)

Группа животных	Количество активированных тромбоцитов, %		Агрегация тромбоцитов, Δ % по отношению к контролю
	Контроль	Опыт	
Интактные + гликлазид	16,75 \pm 1,78	5,75 \pm 0,98*	- 70,14 \pm 4,12*
Диабет + гликлазид	24,00 \pm 2,44	6,33 \pm 0,33*	- 77,60 \pm 1,00*
Интактные + глибенкламид	16,75 \pm 1,78	5,66 \pm 0,66*	- 25,50 \pm 7,94*
Диабет + глибенкламид	24,00 \pm 2,44	6,00 \pm 0,57*	- 58,17 \pm 8,18*
Интактные + глидифен	16,75 \pm 1,78	5,66 \pm 0,33*	- 23,74 \pm 7,43*
Диабет + глидифен	24,00 \pm 2,44	9,00 \pm 1,05*	- 34,68 \pm 6,42*
Интактные + РУ-254	16,75 \pm 1,78	5,50 \pm 1,20*	- 69,73 \pm 5,45*
Диабет + РУ-254	24,00 \pm 2,44	5,75 \pm 0,72*	- 84,78 \pm 5,42*

* — данные статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$).

ному соединению и составляла 77 % ($p < 0,05$). Остальные гипогликемические препараты по ингибированию агрегации кровяных пластинок статистически значимо уступали гликлазиду (в порядке убывания): глибенкламид > глидифен (табл. 1).

Применение изучаемых препаратов у подопытных животных с СД улучшало и реологические показатели крови. Так, снижение ВК при всех скоростях сдвига имело достоверный характер у всей изучаемой группы препаратов (табл. 2). Однако наибольшую активность проявило соединение РУ-254, ИАЭ которого снизился

на 19 % (табл. 2). Остальные препараты снижали показатель ВК и ИАЭ следующим образом (в порядке убывания активности): гликлазид > глибенкламид > глидифен.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что все изучаемые соединения проявили антиагрегантную активность на крови как интактных, так и “диабетных” крыс. В процессе сравнения результатов эксперимента установлено, что на модели стрептозотоцинового диабета влияние исследуемых препаратов на АТ было более выраженным, чем в опытах на интактных животных. Наибольшую активность проявило соединение РУ-254. Среди известных гипогликемических препаратов более эффективным в наших исследованиях оказался гликлазид, что согласуется с данными других исследователей [2]. По активности он незначительно уступал новому гипогликемическому средству РУ-254. Известно, что у гликлазида влияние на АТ не зависит от уровня глюкозы в плазме крови, т.е. является самостоятельным эффектом [13].

Полученные нами данные свидетельствуют о наличии такого же самостоятельного эффекта у соединения РУ-254 при введении его интактным крысам. Данный эффект, по-видимому, отсутствует у глибенкламида и глидифена, т.к. их активность в отношении АТ “диабетных” крыс была в 2 раза выше, чем интактных животных, что, вероятно, свидетельствует о связи данного эффекта с гипогликемическими свойствами данных препаратов.

Как известно, ВК при различных скоростях сдвига неодинакова, характеризует кровоток в разных областях гемодинамики и суммарно отражает агрегатное состояние эритроцитов, их деформабильность, содержание фибриногена крови. Оценивая влияние исследуемых препаратов на ВК крови, можно констатировать, что у интактных животных была отмечена лишь тенденция к снижению этого показателя. Недостоверные снижения ВК при высоких напряжениях сдвига

Таблица 2. Влияние препаратов на вязкость крови интактных крыс и крыс со стрептозотоциновым диабетом при различных скоростях сдвига и индекс агрегации эритроцитов (ИАЭ) ($M \pm m$)

Группа животных	Исследуемые препараты	Вязкость крови при различных скоростях сдвига			ИАЭ
		200 с ⁻¹	100 с ⁻¹	20 с ⁻¹	
Интактные крысы	Контроль	3,45 \pm 0,06	3,57 \pm 0,09	4,85 \pm 0,07	1,40 \pm 0,06
	Гликлазид	3,34 \pm 0,03	3,44 \pm 0,02	4,53 \pm 0,04*	1,35 \pm 0,03
	Глибенкламид	3,43 \pm 0,02	3,52 \pm 0,07	4,76 \pm 0,05	1,38 \pm 0,03
	Глидифен	3,45 \pm 0,03	3,53 \pm 0,05	4,78 \pm 0,02	1,38 \pm 0,03
	РУ-254	3,33 \pm 0,07	3,42 \pm 0,08	4,50 \pm 0,03*	1,35 \pm 0,04
Диабет	Контроль	3,65 \pm 0,07	3,97 \pm 0,09	6,33 \pm 0,27	1,73 \pm 0,14
	Гликлазид	3,31 \pm 0,09*	3,62 \pm 0,06*	4,93 \pm 0,03*	1,48 \pm 0,04*
	Глибенкламид	3,48 \pm 0,04*	3,67 \pm 0,07*	5,32 \pm 0,05*	1,52 \pm 0,04*
	Глидифен	3,49 \pm 0,05*	3,68 \pm 0,03*	5,34 \pm 0,04*	1,53 \pm 0,03*
	РУ-254	3,21 \pm 0,05*	3,52 \pm 0,06*	4,50 \pm 0,04*	1,40 \pm 0,40*

* — данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$).

по сравнению с контролем были обнаружены у всех изучаемых соединений, а при агрегат-зависимых ($20^{\circ-1}$) скоростях величины ВК значительно уменьшались лишь у соединения РУ-254 и гликлазида. В то же время определение ВК у крыс со стрептозотоциновым диабетом выявило статистически достоверное снижение этого показателя у всех препаратов при различных скоростях сдвига. Наибольшее действие изучаемые вещества оказывали при низкосдвиговых значениях ВК, характеризующих состояние процессов агрегации эритроцитов в веноулярных отделах микроциркуляторного русла. Активность исследуемых веществ в отношении влияния на ВК при высоких скоростях сдвига, свидетельствующих о способности эритроцитов к деформации, оказалась ниже у всей группы препаратов. Учитывая сказанное, можно предположить, что снижение ВК при воздействии изучаемых веществ происходит за счет снижения агрегации эритроцитов.

Таким образом, соединение РУ-254 проявило максимальную активность в комплексе гемореологических параметров. Гликлазид обладал меньшей эффективностью, но превосходил по активности глибенкламид и глидифен. Сочетание гипогликемических свойств у соединения РУ-254 с гемореологической активностью, превосходящей таковую у таких сахароснижающих препаратов как гликлазид, глибенкламид и глидифен, можно считать перспективной основой для дальнейшего изучения и создания более эффективного вещества для лечения больных СД с сосудистыми осложнениями.

ВЫВОДЫ

1. Изученные гипогликемические средства достоверно снижают количество активированных тромбоцитарных форм и ингибируют АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов (АТ) у интактных и крыс с экспериментальным диабетом.

2. Статистически достоверное снижение вязкости крови под действием изученных веществ при всех скоростях сдвига наблюдается только у “диабетных” крыс. У интактных животных отмечена лишь тенденция к снижению вязкости крови.

3. Наиболее выраженной активностью в отношении ингибирования АТ и улучшения реологических свойств крови обладает новое гипогликемическое средство РУ-254. Известные сахароснижающие средства гликлазид, глибенкламид и глидифен уступают по эффективности данному препарату.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. П. Арутюнов, *Сердце*, 3(1(13)), 36 – 40 (2004).
2. М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, О. Г. Козлова и др., *Русский мед. журн.*, № 6, 358 – 363 (2003).
3. А. Д. Викулов, И. А. Осетров, *Физиол. человека*, № 5, 24 – 132 (2001).
4. З. А. Габбасов, Е. Г. Попов, И. Ю. Гаврилов, и др., *Лаб. дело*, № 10, 15 – 18 (1989).
5. Г. Р. Галстян, *Русский мед. журн.*, № 27, 1266 – 1271 (2002).
6. А. Л. Давыдов, Л. Ю. Баранова, *Пробл. эндокринолог.*, № 3, 33 (2005).
7. Н. А. Добровольский, Ю. М. Лопухин, А. С. Парфенов и др., *Реологические исследования в медицине: Сб. науч. тр.*, НЦХ РАМН, Москва (1998), сс. 45 – 51.
8. А. В. Древаль, *Medical Market.*, 28(1), 50 (1998).
9. Е. Б. Кравец, Н. В. Рязанцева, Н. М. Яковлева и др., *Пробл. эндокринолог.*, № 6, 10 (2006).
10. В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др., *Лабораторные методы исследования в клинике*, Медицина, Москва (1987), с. 368.
11. А. А. Спасов, В. И. Петров, В. А. Анисимова и др., *Всероссийский диабетологический конгресс*, Тезисы докладов, Москва (2008), с. 336.
12. А. Ф. Турчаева, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Волгоград (1995).
13. U. J. Weekes, *Украинский мед. журн.*, № 3 (29), 7 – 11 (2002).

Поступила 08.09.08

EFFECT OF HYPOGLYCEMIC DRUGS ON HEMORHEOLOGICAL PARAMETERS

A. A. Spasov*, A. F. Kucheryavenko, and O. A. Salaznikova

Department of Pharmacology, Volgograd State Medical Academy, pl. Pavshikh Bortsov 1a, Volgograd, 400131, Russia

*e-mail: Farm@vLpost.ru

The hemorheological activity of a series of hypoglycemic drugs and the new antidiabetic agent RU-254 (9-diethylaminoethyl-2,3-dihydroimidazo[1,2-a]benzimidazole dihydrochloride) was studied by comparative tests on rats with model diabetes. All the tested drugs reduce the number of ADP-activated platelet forms, inhibit platelet aggregation, and decrease the blood viscosity in both intact rats and the animals with streptozotocin-induced diabetes. RU-254 exhibited maximum activity with respect to a complex of hemorheological parameters. Glyclazide was less effective in this respect than RU-254, but exceeded the activity of both glybenclamide and glydifen.

Key words: Hypoglycemic drugs, platelet aggregation, blood viscosity, erythrocyte aggregation index.