
ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

Т. М. Букатина, Д. С. Яковлев, А. А. Спасов, К. Ф. Суздаев

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии

АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ И ТРОМБОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЯ SBT-119 НА МОДЕЛИ *IN VITRO* (GOROG THROMBOSIS TEST)

УДК 615.015:615.45:612.115

Исследовались антитромботическая и тромболитическая активность вещества, с P2Y₁-антагонистическими свойствами, Sbt-119 на образцах цельной крови крыс *in vitro*. Установлено, что данное соединение по времени наступления окклюзии превосходит препарат сравнения тиклопидин ($p < 0,05$) и статистически недостоверно — клопидогрель. При этом вещество Sbt-119 не влияет на процесс лизиса агрегатов тромбоцитов.

Ключевые слова: P2Y₁-антагонист, антитромботическая активность, тромболитическая активность, активация тромбоцитов, агрегация, коагуляция, окклюзия, лизис, индол, тест Горога, «Global Thrombosis Test»/«GGT Gorog Thrombosis Test», тиклопидин, клопидогрель.

T. M. Bukatina, D. S. Yakovlev, A. A. Spasov, K. Ph. Suzdalev

INVESTIGATION OF ANTITHROMBOTIC AND THROMBOLYTIC ACTIVITY OF SUBSTANCE SBT-119 ON EXPERIMENTAL *IN VITRO* MODEL (GOROG THROMBOSIS TEST)

We studied *in vitro* antithrombotic and thrombolytic activity of substance Sbt-119 with P2Y₁-antagonistic properties in a native blood sample of rats. As to its occlusion time, the compound surpasses other agents of comparison, ticlopidin ($p < 0, 05$) and clopidogrel. Substance Sbt-119 has no influence on thrombolysis.

Key words: P2Y₁-antagonistic, antithrombotic activity, thrombolytic activity, platelet activation, aggregation, coagulation, occlusion, lysis, indole, Gorog Thrombosis Test, Global Thrombosis Test/GGT Gorog Thrombosis Test, ticlopidin, clopidogrel.

В настоящее время в клинической практике наиболее распространены антиагрегантные препараты: блокаторы P2Y₁₂-рецепторов — тиклопидин, клопидогрель, прасугрель, тикангрелор, кангрелор, элиногрель и ингибиторы циклооксигеназного пути агрегации тромбоцитов — ацетилсалициловая кислота [1, 2, 6, 7]. Наличие ряда недостатков у данных лекарственных средств (развитие резистентности при длительных курсах лечения, позднее наступление основного терапевтического эффекта, повышение риска кровотечений различного генеза, нейтропения, тромбоцитопения, аллергические реакции и другие [6]), а также особенность их ме-

ханизма действия (влияние на конечную стадию необратимой агрегации тромбоцитов) свидетельствует об актуальности поиска новых веществ с антиагрегантной и антитромботической активностью.

К настоящему времени имеется множество экспериментальных данных о новой перспективной мишени для создания антиагрегантных и антитромботических средств — блокаторов P2Y₁-рецепторов. Именно подавление активности данного подтипа пуриновых рецепторов на мембране тромбоцитов предотвращает активацию и последующую агрегацию тромбоцитов на начальной стадии, когда процесс обратим [2, 5, 6]. Это объясняет актуальность выявления и изучения свойств

новых соединений с пуриnergической антагонистической активностью как потенциальных корректоров функциональной активности тромбоцитов при нарушениях гемостаза. В ранее проведенных исследованиях по изучению активностей веществ было установлено, что соединение производное индола Sbt-119 на обогащенной тромбоцитами плазме проявляет P2Y₁-антагонистическую, антиагрегантную активность в условиях *in vitro* и *ex vivo* [3, 4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование влияния соединения Sbt-119 на время окклюзии и лизиса цельной крови крыс *in vitro*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние веществ на время окклюзии и лизиса цельной крови крыс изучалось по методу Goroga D. A. [8] на приборе «Global Thrombosis Test» (Montrose Diagnostics Ltd, UK), имитирующем механическую модель тромбообразования *in vitro*, равнозначную патофизиологической окклюзии. Этот процесс относят к одному из звеньев патогенеза атеросклеротического процесса периферических сосудов, диабетической ангиопатии, тромбоза коронарных артерий, пристеночного тромбоза в полостях сердца, периферической тромбоэмболии, тромбоза вен нижних конечностей, легочной тромбоэмболии и т. д.

Принцип метода заключается в том, что при прохождении крови (37 °С) через узкое пространство между большим шариком и внутренней стенкой трубки, под действием высокого напряжения, происходит активация тромбоцитов.

При достижении током крови пространства между большим и маленьким шариками за счет турбулентности запускаются процессы агрегации (выделение АДФ и тромбосана-A2) и коагуляция (синтез тромбина), приводящие в конечном итоге к окклюзии (рис.) [9]. Для усиления пуринового механизма активации тромбоцитов в пробирку предварительно вносится раствор АДФ [8].

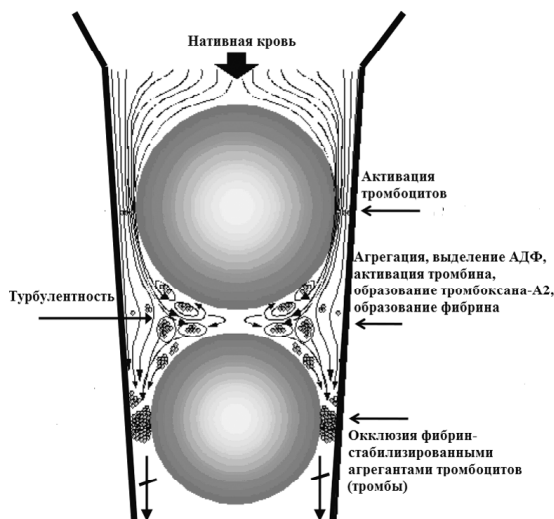


Рис. Принцип «Global Thrombosis Test»

Соединение Sbt-119 и препараты сравнения клопидогрель («Sanofi-syntelabo», Франция) и тиклопидин («Sanofi-syntelabo», Франция) изучались в эквивалентных дозах, соответствующих средней терапевтической дозе тиклопидина — 6 мг/кг. Вещества вводились перорально за два часа до эксперимента. Контрольная группа получала дистиллированную воду в эквивалентных объемах. Животных наркотизировали хлоралгидратом при внутривентральном введении в дозе 400 мг/кг. Забор крови крыс, в объеме 2 мл, из брюшной аорты проводили непосредственно перед внесением проб в пробирку. АДФ использовали в концентрации 5 mM.

Антитромботическую и тромболитическую активности веществ оценивали по времени окклюзии (ОТ, с) и лизиса (LT, с) соответственно. Статистическая обработка данных проводилась с использованием критерия Краскелла-Уолиса с постобработкой тестом Данна для множественных сравнений в программе «Graph. Pad. Prism. 5.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных о времени окклюзии показал, что клопидогрель достоверно по отношению к контролю снижал скорость тромбообразования в 1,8 раз. Второй препарат сравнения, тиклопидин, оказался менее активным, незначительно, статистически недостоверно, увеличивал время развития окклюзии.

По степени подавления процесса тромбообразования Sbt-119 в 2,1 и 1,9 раза превосходил контроль и препарат сравнения тиклопидин соответственно ($p < 0,05$). При сопоставлении данных о влиянии на показатель «время окклюзии» опытного вещества к клопидогрелю было отмечено, что соединение Sbt-119 проявляет более активное антитромботическое действие (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

Влияние соединения Sbt-119 и препаратов сравнения на время окклюзии в образцах цельной крови крыс *in vitro* ($m \pm M$)

Соединение	Количество проб	Время окклюзии (ОТ), с
Контроль	6	46,30 ± 8,71
Sbt-119	6	97,60 ± 12,43*.#
Клопидогрель	6	86,80 ± 5,24*
Тиклопидин	6	50,20 ± 9,47

*Статистически значимые отличия относительно контроля;

#статистически значимые отличия относительно тиклопидина (критерий Краскелла-Уолиса, $p < 0,05$).

Вероятно, эти различия связаны с механизмом действия опытного вещества и препаратов сравнения. Так, тиклопидин и клопидогрель реализуют антитромботическую активность посредством блокирования процесса АДФ-индуцированной агрегации. То есть они не влияют

на один из пусковых механизмов окклюзии — активацию тромбоцитов [2]. Опытное соединение Sbt-119, как показали проведенные исследования, подавляет АДФ-опосредованную и активацию, и агрегацию [4].

Проведение анализа полученных результатов по влиянию вещества Sbt-119 и препаратов сравнения на «время лизиса» показало, что все соединения практически не влияли на данный показатель (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

Влияние соединения Sbt-119 и препаратов сравнения на время лизиса цельной крови крыс *in vitro* ($m \pm M$)

Соединение	Количество проб	Время лизиса (LT), с
Контроль	6	1481,8 ± 273,2
Sbt-119	6	1549,0 ± 102,4
Клопидогрель	6	1520,80 ± 43,92
Тиклопидин	6	1579,70 ± 55,31

Это имеет важное значение, так как для большинства используемых в настоящее время антиагрегантных и антитромбоцитарных препаратов характерно наличие такого осложнения, как повышение риска кровотечений, что связано, в том числе, с их фибринолитическим действием [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Соединение Sbt-119 проявляет антитромботическую активность, что подтверждается достоверным

увеличением времени наступления окклюзии в сравнении с контролем и тиклопидином в среднем в 2 раза. Установлено, что данное вещество по силе подавления образования агрегатов тромбоцитов статистически недостоверно превосходит и клопидогрель. При этом Sbt-119 не оказывает влияния на фибринолитическую функцию крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З. С. // Клинич. фармакология и терапия. — 2005. — № 3. — С. 51—53.
2. Зиганшин А. У., Зиганшина Л. Е. P₂-рецепторы: перспективная мишень для будущих лекарств. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 133 с.
3. Митина Т. М., Яковлев Д. С., Спасов. А. А., Суздаев К. Ф. // Вестник ВолгГМУ. — 2011. — № 4. — С. 19—21.
4. Митина Т. М., Яковлев Д. С. Изучение P2Y1-антагонистических свойств новых производных индола // Сборн. ст. II международ. науч.-практ. конф. «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». — СПб, 2011. — Т. 3. — С. 26—30.
5. Baurand A. // Cardiovascular Drug Reviews. — 2003. — Vol. 21, № 1. — P. 67—76.
6. Besada P., Gao Zhan-Guo, Hechler B., Gachet C., et al. // Biochem Pharmacol. — 2008. — Vol. 75. — № 6. — P. 1341—1347.
7. Fitzgerald D. J. // Neurology. — 2001. — Vol. 57. — P. 1—4.
8. Saraf S., Wellsted D., Sharma S., Gorog D. A. // Thrombosis Research. — 2009. — P. 447—451.
9. Yamamoto J., Yamashita T., Ikarugi H., et al. // Blood Coagul Fibrinolysis. — 2003. — P. 31—39.
10. Zhan-Guo Gao, Beatrice Hechler, Pedro Besada, et al. // Biochem. Pharmacol. — 2008.