

---

# ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

---

А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, О. А. Салазникова

Кафедра фармакологии ВолГМУ

## ВЛИЯНИЕ ГЛИКЛАЗИДА НА ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

УДК 615.252.349:591.11

Основной целью исследования явилось изучение влияния препарата «Гликлазид» на гемобиологические свойства крови. В результате было показано, что гликлазид при введении его диабетным крысам ингибирует агрегацию тромбоцитов, снижает вязкость крови и проявляет выраженную фибринолитическую активность.

*Ключевые слова:* диабет, агрегация тромбоцитов, фибринолитическая активность, вязкость крови.

---

Социальная значимость сахарного диабета (СД) определяется большим количеством сосудистых осложнений [5]. Поэтому очень важным является создание новых гипогликемических средств с положительным влиянием на гемореологические параметры. Для многих гипогликемических препаратов характерно влияние на агрегацию тромбоцитов и реологию крови. Одним из наиболее эффективных пероральных противодиабетических средств является «Гликлазид» — препарат сульфонилмочевины второго поколения с уникальными свойствами, который позволяет не только эффективно контролировать уровень глюкозы в крови, но и обладает антитромбогенными свойствами [6]. Поэтому нам представилось интересным посмотреть, как влияет гликлазид на другие звенья системы гемостаза, а именно на реологию крови, антитромбогенную и фибринолитическую активность.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние гликлазида на различные звенья гемостаза лабораторных крыс.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние препарата «Гликлазид» на систему гемостаза изучали на 60 белых нелинейных крысах обоего пола массой 180—250 г. Препарат вводился внутривенно крысам в дозе 5 мг/кг за 2 часа до исследования. На втором этапе эксперимента у крыс вызывалась тяжелая форма экспе-

риментального стрептозотоцинового диабета. Уровень глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора «Глюкоза ФКД» (Россия). Забор крови для исследования осуществлялся из нижней полой вены наркотизированных животных. На третьем этапе эксперимента опыты были выполнены на интактных крысах и животных со стрептозотоциновым диабетом при семидневном введении им исследуемого препарата.

Для комплексной оценки состояния реологических свойств крови определялись следующие гемореологические параметры: агрегация тромбоцитов, вязкость крови, величина гематокрита. Влияние гликлазида на агрегацию и количество активированных тромбоцитов изучали на двухканальном лазерном анализаторе агрегации (модель 220 LA) научно-производственной фирмы «Биола» (г. Москва). Определение агрегации тромбоцитов проводили по методу Vorn G. (1962) в модификации Габбасова З. А. и др. [2]. В качестве индуктора агрегации использовали аденозиндифосфорную кислоту (АДФ) фирмы «Reanal» (Венгрия) в концентрации 5 мкМ. Количество активированных тромбоцитов подсчитывали с помощью специальной компьютерной программы [2].

Вязкость крови определялась при помощи вискозиметра ротационного типа анализатора крови реологического (АКР-2) [3] при трех скоростях сдвига ( $20\text{с}^{-1}$ ,  $100\text{с}^{-1}$ ,  $200\text{с}^{-1}$ ). Влияние веществ на агрегацию эритроцитов оценивали по индексу аг-

регации, рассчитываемому как отношение вязкости крови при скорости сдвига  $20\text{c}^{-1}$  к вязкости крови при  $200\text{c}^{-1}$  [1]. Величина гематокрита определялась по унифицированному методу, описанному Меньшиковым В. В. [4]. Вязкость крови измерялась при стандартизированном гематокрите — 40 %.

Определение фибринолитической активности проводилось по методу Astrup G., Mullertr S. (1952), модифицированному Меньшиковым В. В. (1987) [4].

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием t-критерия Стьюдента и парного критерия Вилкоксона при помощи пакета статистических программ STATISTIKA 6.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии исследований, проводившихся на интактных животных при однократном введении препарата, установлено, что гликлазид проявил антиагрегационную активность. На фоне его введения способность кровяных пластинок к агрегации достоверно снижалась на 70 %, а число активированных форм тромбоцитов на 11 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

**Влияние гликлазида на АДФ-индуцируемую агрегацию и количество активированных тромбоцитов крови у крыс 1-й и 2-й серий ( $M \pm m$ )**

N п/п	Гликлазид при однократном и 7-дневном введении	Количество активированных тромбоцитов, %		Агрегация тромбоцитов $\Delta$ % по отношению к контролю
		Контроль	Опыт	
1.	Интактные крысы	16,75 $\pm$ 1,78	5,75 $\pm$ 0,98*	-70,14 $\pm$ 4,12*
2.	Диабетные крысы	24,00 $\pm$ 2,44	6,33 $\pm$ 0,33*	-77,60 $\pm$ 1,00*
3.	Интактные крысы (7 дней)	17,82 $\pm$ 2,51	6,02 $\pm$ 1,13	-32,17 $\pm$ 1,62*
4.	Диабетные крысы (7 дней)	26,05 $\pm$ 1,34	8,45 $\pm$ 1,74	-74,67 $\pm$ 3,90*

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

При анализе влияния гликлазида на показатель вязкости крови при различных скоростях сдвига было обнаружено недостоверное снижение данного показателя при высоких скоростях сдвига и было статистически значимым только при скорости сдвига  $20\text{c}^{-1}$  (табл. 2).

В результате изучения влияния гликлазида на фибринолитическую активность крови интактных крыс при однократном введении была выявлена способность препарата активировать фибринолиз на 14,8 % ( $p > 0,05$ ). При этом плазминовая активность не изменялась, а активность активаторов плазминогена недостоверно повышалась на 29,4 % (табл. 3).

Во второй серии экспериментов проводились исследования на диабетных крысах. При этом за-

регистрировано достоверное увеличение агрегации тромбоцитов и вязкости эритроцитов, что является важной причиной ухудшения реологических свойств крови.

Как видно из табл. 1, количество и функциональная активность тромбоцитов крыс на модели стрептозотоцинового диабета достоверно отличалась по сравнению с контрольными крысами. Поэтому нам показалось интересным выяснить, как изменяются вышеуказанные параметры у диабетных крыс под влиянием гликлазида. Согласно данным, представленным в табл. 1, снижение агрегации тромбоцитов в ответ на АДФ под влиянием гликлазида у диабетных крыс было достоверным и более выраженным по сравнению с интактными крысами, а число активированных тромбоцитов было снижено в 3,7 раза относительно контроля. Известно, что АДФ повышает поступление внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  путем открытия АДФ-зависимых неселективных кальциевых каналов. Снижение поступления внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  в тромбоциты под действием АДФ, выявленное нами на фоне введения гликлазида, обуславливает достоверное снижение агрегации тромбоцитов на данный индуктор у диабетных крыс и свидетельствует о более выраженном повышении чувствительности к инсулину под действием гликлазида, что может приводить к повышению продукции NO в тромбоцитах и индуцировать образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), блокирующего кальциевые каналы.

В ходе проведенного исследования было также обнаружено статистически значимое увеличение показателей вязкости крови в группе крыс с СД по отношению к здоровым животным во всем диапазоне скоростей сдвига (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

**Влияние гликлазида на вязкость крови у крыс 1-й и 2-й серии при различных скоростях сдвига ( $M \pm m$ )**

N п/п	Гликлазид при однократном и 7-дневном введении	Вязкость крови при различных скоростях сдвига, сПз			ИАЭ	
		200 $\text{c}^{-1}$	100 $\text{c}^{-1}$	20 $\text{c}^{-1}$		
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*	
2.	Диабетные крысы	Контроль	3,78 $\pm$ 0,07	3,97 $\pm$ 0,09	6,33 $\pm$ 0,27	1,67 $\pm$ 0,14
		Гликлазид	3,51 $\pm$ 0,09*	3,62 $\pm$ 0,06*	4,61 $\pm$ 0,03*	
3.	Интактные крысы (7 дней)	Контроль	3,50 $\pm$ 0,07	3,60 $\pm$ 0,07	4,87 $\pm$ 0,08	1,39 $\pm$ 0,06
		Гликлазид	3,37 $\pm$ 0,02	3,47 $\pm$ 0,07	4,55 $\pm$ 0,05*	
4.	Диабетные крысы (7 дней)	Контроль	3,79 $\pm$ 0,09	4,03 $\pm$ 0,09	6,24 $\pm$ 0,04	1,64 $\pm$ 0,06
		Гликлазид	3,60 $\pm$ 0,08*	3,67 $\pm$ 0,07*	4,55 $\pm$ 0,11*	

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

Так, при скоростях сдвига  $200\text{c}^{-1}$  данный показатель в группе здоровых животных достоверно превышал величины контрольной группы на 9 %,

что свидетельствует о способности эритроцитов к деформации.

Но следует отметить гораздо большие изменения вязкостных характеристик при низкой скорости сдвига ( $20^{с^{-1}}$ ) — увеличение на 30 %. Это может свидетельствовать о выраженных нарушениях структуры и функции эритроцитарных мембран, а также активации процессов агрегатообразования. Данное предположение подтверждается достоверным увеличением индекса агрегации эритроцитов на 19 %. Гликлазид достоверно снижал вязкость крови при всех скоростях сдвига у крыс со стрептозотоциновым диабетом (табл. 2). Так при высоких скоростях сдвига ( $200^{с^{-1}}$  и  $100^{с^{-1}}$ ) гликлазид достоверно снижал вязкость крови на 8 и 9 % соответственно, что указывает на его способность улучшать деформабельность эритроцитов. При низкой скорости сдвига ( $20^{с^{-1}}$ ) снижение вязкости относительно контрольных показателей составило 27,2 %.

Фибринолитическая активность крови животных с экспериментальным СД была понижена в 2,4 раза, наблюдалось уменьшение плазминовой активности и активности активаторов плазминогена в 3,4 и 2,1 раза соответственно по сравнению с интактными животными (табл. 3). Введение гликлазида больным крысам приводило к активации фибринолитического процесса. При этом фибринолитическая активность увеличивалась в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ), плазминовая активность возрастала в 3 раза, а активность активаторов плазминогена достоверно увеличивалась в 2,1 раза.

ТАБЛИЦА 3

**Влияние гликлазида на фибринолитическую активность крови у крыс 1-й и 2-й серий ( $M \pm m$ )**

№ п/п	Гликлазид при однократном и семидневном введении	Фибринолитическая активность, $мм^2$	Плазминовая активность, $мм^2$	Активность активаторов плазминогена, $мм^2$	
1.	Интактные крысы	Контроль	27,00 ± 1,62	10,20 ± 0,89	16,80 ± 1,47
		Гликлазид	31,00 ± 2,05	9,25 ± 0,55	21,75 ± 2,59
2.	Диабетные крысы	Контроль	11,25 ± 2,30	3,00 ± 1,15	7,92 ± 1,19
		Гликлазид	26,00 ± 6,16	9,00 ± 1,87*	17,00 ± 4,41
3.	Интактные крысы (7 дней)	Контроль	28,50 ± 3,86	9,00 ± 1,08	19,66 ± 1,78
		Гликлазид	37,33 ± 1,18	10,33 ± 0,72	23,66 ± 2,41
4.	Диабетные крысы (7 дней)	Контроль	12,75 ± 1,10	4,50 ± 0,64	7,75 ± 0,94
		Гликлазид	37,33 ± 1,18*	10,33 ± 0,72*	10,33 ± 0,72*

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

В связи с тем, что при СД проводится длительная гипогликемическая терапия, то представлялось интересным оценить эффективность действия гликлазида на различные звенья гемостаза и его способность к образованию активных мета-

болитов при семидневном внутривенном введении его лабораторным животным.

Как свидетельствуют результаты эксперимента, представленные в табл. 1 и 2, изменений в комплексе гемореологических параметров и влияния на агрегацию тромбоцитов как интактных, так и диабетных крыс при семидневном введении им гликлазида не наблюдалось по сравнению с однократным введением.

Что касается фибринолитической активности гликлазида при семидневном введении интактным и диабетным крысам (табл. 3), то она увеличивалась по сравнению с однократным введением.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Проведенная серия экспериментов, а также анализ литературных данных и сопоставление их с результатами наших исследований позволяют заключить, что гликлазид улучшает реологические свойства и функциональную активность тромбоцитов крови. Снижение процессов активации и агрегации тромбоцитов под действием гликлазида уменьшает выделение в кровь тромбоцитарных факторов свертывания, которые являются пусковым моментом каскада свертывания крови. Кроме того, гликлазид обладает фибринолитической активностью, которая оказалась более выраженной при длительном введении гликлазида, что подтверждает образование его активных метаболитов [5]. Повышение фибринолитической активности было обусловлено увеличением активности активаторов плазминогена в крови и сосудистой стенке, улучшением возможности их освобождения, а также возрастанием активности плазмина. Существенное увеличение плазминовой активности позволяет предположить, что гликлазид или его метаболиты могут выступать в роли активатора, непосредственно превращая плазминоген в плазмин.

Таким образом, помимо гипогликемизирующих свойств, гликлазид воздействует на некоторые ключевые механизмы развития диабетической ангиопатии, предотвращая развитие или прогрессирование сосудистых осложнений сахарного диабета.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Викулов А. Д., Осетров И. А. // Физиология человека. — 2001. — № 5. — С. 24—132.
2. Габбасов З. А., Попов Е. Г., Гаврилов И. Ю. и др. // Лабораторное дело. — 1989. — № 10. — С. 15—18.
3. Добровольский Н. А., Лопухин Ю. М., Парфенов А. С. и др. // Реологические исследования в медицине: сб. науч. тр. — М.: НЦХ РАМН, 1998. — С. 45—51.
4. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др. // Лабораторные методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
5. Новикова Ю. В., Рунихин А. Ю. // Русский медицинский журнал. — 2007. — Т. 15, № 27. — С. 2060—2070.
6. Siluk D., Kaliszan R., Haber P., et al. // Diabetologia. — 2002. — № 45. — P. 1034—1037.