



А.Е. Левих¹, О.А. Подплетня¹, Л.І. Кучеренко², В.Й. Мамчур¹

КОМБІНОВАНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ ЯК СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ Й БЕЗПЕЧНОСТІ АНТИАГРЕГАНТНОЇ ФАРМАКОТЕРАПІЇ

¹Дніпропетровська державна медична академія,

²НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

Ключові слова: ацетилсаліцилова кислота, тіотриазолін, агрегація тромбоцитів, ульцерогенна дія, антиагрегантна фармакотерапія.

Ключевые слова: ацетилсалициловая кислота, тиотриазолин, агрегация тромбоцитов, ульцерогенное действие, антиагрегантная фармакотерапия.

Key words: acetylsalicylic acid, thiotriazolin, platelet aggregation, ulcerogenic action, antiaggregant pharmacotherapy.

Розглянуто можливості підвищення безпечності й ефективності антиагрегантної фармакотерапії «кардіологічними» дозами ацетилсаліцилової кислоти при їх комбінації з вітчизняним антиоксидантним препаратом тіотриазоліном. Результати досліджень показали, що комбінований препарат ацетилсаліцилова кислота (10 мг/кг) + тіотриазолін (2,5 мг/кг) має більш виражену антиагрегантну дію, в порівнянні з монопрепаратом ацетилсаліцилової кислоти (10 мг/кг). Крім цього, додавання тіотриазоліну до стандартної антитромбоцитарної терапії дозволяє знизити несприятливий вплив ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку шлунка. Запропонований комбінований препарат є перспективним для лікування та профілактики захворювань серцево-судинної системи.

Рассмотрены возможности повышения безопасности и эффективности антиагрегантной фармакотерапии «кардиологическими» дозами ацетилсалициловой кислоты при их комбинации с отечественным антиоксидантным препаратом тиотриазолином. Результаты исследований показали, что комбинированный препарат ацетилсалициловая кислота (10 мг/кг) + тиотриазолин (2,5 мг/кг) оказывает более выраженное антиагрегантное действие, по сравнению с монопрепаратом ацетилсалициловой кислоты (10 мг/кг). Кроме того, добавление тиотриазолина к стандартной антитромбоцитарной терапии позволяет снизить неблагоприятное влияние ацетилсалициловой кислоты на слизистую оболочку желудка. Предложенный комбинированный препарат является перспективным для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Possibilities of increasing safety and efficiency of antiaggregant pharmacotherapy by «cardiologic» doses of acetylsalicylic acid (ASA) when combined with the domestic antioxidant drug thiotriazolin are considered in the article. Results of the research have shown that combined drug ASA (10 mg/kg) + thiotriazolin (2,5 mg/kg) renders more expressed antiaggregative action in comparison with the ASA (10 mg/kg) alone. Furthermore addition of thiotriazolin to standard antiplatelet therapy allows to decrease negative influence of ASA on mucous coat of stomach. The offered combined drug is perspective for treatment and prevention of cardiovascular diseases.

Ацетилсаліцилова кислота (АСК) – препарат номер один для лікування захворювань серцево-судинної системи. На сьогодні це один з найбільш вивчених лікарських засобів у світі, що доволі широко застосовується у клінічній практиці. Ефективність цього препарату для профілактики гострих кардіоваскулярних подій доведено у численних рандомізованих клінічних дослідженнях. Так, мета-аналіз майже 300 досліджень показав, що АСК здатна на чверть зменшувати ризик розвитку серйозних серцево-судинних ускладнень (нефатальний інфаркт міокарда, нефатальний інсульт, смертність від серцево-судинних захворювань) [1]. Сучасні міжнародні рекомендації з лікування різних категорій кардіологічних пацієнтів високого ризику класифікують застосування АСК на рівні рекомендацій І класу (безумовно доведена корисність терапевтичного підходу) і рівня доказовості А (ефективність і безпека препарату при даних клінічних станах доведена мінімум у 2 багатоцентрових рандомізованих плацебо контрольованих дослідженнях) [2]. Водночас призначення АСК навіть у низьких «кардіологічних» дозах може призводити до ряду небажаних ефектів – виразки шлунка, ентеропатії, шлунково-кишкових кровотеч. Крім того, важливу клінічну проблему при проведенні антиагрегантної фармакотерапії створює резистентність до АСК [3]. Одним із механізмів, що лежить в основі цього явища, є АСК-нечутливий синтез тромбоксану A_2 , який є наслідком стимуляції тромбоцитів

продуктом вільнорадикального окислення арахідонової кислоти – F_2 -ізопростаном 8-ізо-простагландину $F_{2\alpha}$ [4]. Тому нині достатньо актуальним є пошук шляхів підвищення безпечності й ефективності антиагрегантної фармакотерапії з використанням ацетилсаліцилової кислоти.

МЕТА РОБОТИ

Вивчити вплив комбінованого застосування АСК (10 мг/кг) та антиоксиданту тіотриазоліну (2,5 мг/кг) на показники судинно-тромбоцитарного гемостазу, а також стан слизової оболонки шлунка щурів в умовах експериментальної патології, що супроводжується гіперагрегацією тромбоцитів (алоксан-індукований цукровий діабет).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на 24 білих нелінійних щурах масою 250–300 г, розподілених на 4 групи: I – інтактні тварини (пасивний контроль), n=6; II – тварини з алоксановим діабетом (АД, активний контроль), n=6; III – АД + АСК (10 мг/кг), n=6; IV – АД + АСК (10 мг/кг) + тіотриазолін (2,5 мг/кг), n=6. Експериментальний діабет моделювали за допомогою діабетогенної речовини – алоксану моногідрату (Sigma, США), що вводили одноразово підшкірно в дозі 150 мг/кг після попередньої 24-годинної депривації їжі [5]. Рівень глюкози крові визначали на 11 добу після введення алоксану за допомогою глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для подальших досліджень використано тільки тварин з підвищеним рівнем глюкози (>11 ммоль/л).

Показники максимального ступеня та швидкості індукованої агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальною моделлю гіперагрегації після 5-денного введення АСК і комбінації АСК + тіотріазолін

Препарат	Доза, мг/кг	n	Індуктор агрегації			
			Колаген (2 мг/мл)	АК (1 ммоль/л)	АДФ (20 мкмоль/л)	АДФ (5 мкмоль/л)
Максимальний ступінь агрегації, %						
Фізіологічний р-н (пасивний контроль)	–	6	70,1 ± 2,8	82,5 ± 3,7	70,8 ± 3,3	44,5 ± 3,5
Алоксановий діабет (активний контроль)	–	6	97,0 ± 1,0#	92,7 ± 1,8#	89,4 ± 2,1#	60,2 ± 2,8#
АСК	10	6	41,0 ± 2,9*	34,9 ± 3,6*	63,7 ± 4,6*	56,0 ± 2,4
АСК + тіотріазолін	10 + 2,5	6	31,3 ± 2,9**	16,5 ± 1,6**	40,1 ± 3,0**	32,0 ± 2,0**
Швидкість агрегації, %/хв						
Фізіологічний р-н (пасивний контроль)	–	6	50,7 ± 3,7	63,3 ± 3,8	50,3 ± 3,5	45,2 ± 4,1
Алоксановий діабет (активний контроль)	–	6	97,0 ± 1,1#	77,0 ± 3,2#	64,4 ± 3,7#	59,0 ± 3,3#
АСК	10	6	51,3 ± 3,9*	42,3 ± 3,8*	45,3 ± 2,8*	54,6 ± 3,3
АСК + тіотріазолін	10 + 2,5	6	38,8 ± 3,0**	27,6 ± 2,7**	32,6 ± 1,8**	34,7 ± 2,5**

Примітки: # – $p < 0,05$ відносно групи пасивного контролю (фізіологічний р-н); * – $p < 0,05$ відносно групи активного контролю (алоксановий діабет); ** – $p < 0,05$ відносно групи АСК (10 мг/кг); n – кількість тварин у групі.

Препарати вводили внутрішньошлунково в зазначених дозах 1 раз на добу протягом 5 діб, починаючи з 11 дня після введення алоксану й встановлення рівня гіперглікемії. Тваринам I й II груп у відповідному обсязі внутрішньошлунково вводили фізіологічний розчин. Дослідження агрегаційної здатності тромбоцитів проводили за методикою G.V. Vogt на аналізаторі агрегації тромбоцитів «SOLAR AP 2110», як індуктори використовуючи розчини аденозиндифосфату (АДФ) 5 і 20 мкМ, колагену 2 мг/мл й арахідонової кислоти (АК) 1 мМ [6,7]. Визначали ступінь максимальної агрегації та швидкість агрегації. Системну продукцію основного маркера тромбогенезу (тромбоксану A_2) оцінювали за рівнем його стабільного метаболіту 11-дегідро-тромбоксану B_2 у сечі щурів шляхом конкурентного імуоферментного аналізу (11-dehydro-Thromboxane B_2 ELISA kit, Assay Designs Inc., USA). Отримані результати стандартизували за рівнем креатиніну в добовій сечі й виражали в пг 11-дегідро-Тх B_2 / мг креатиніну. Ульцерогенну дію препаратів вивчали методом макроскопічного дослідження слизової оболонки шлунків щурів, які отримували препарати на фоні голодування [8]. Ульцерогенний ефект оцінювали візуально за кількістю виразкових дефектів, що відображалось у виразковому індексі (ВІ).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програм Microsoft Excel та StatPlus Professional 2006. Нормальність розподілу оцінювали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Кількісні результати виражали як середнє та його стандартну похибку ($M \pm m$). Порівняння середніх значень проводили з використанням t-критерію Стьюдента. За статистично значущі відмінності приймали значення $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз отриманих результатів показав, що моделювання алоксанового діабету призводить до збільшення агрегаційної здатності тромбоцитів (табл. 1). Зокрема, ступінь і швидкість колаген-індукованої агрегації збільшувались на 38,5% і 91,5% відповідно, в порівнянні з групою інтактних тварин ($p < 0,05$). Ступінь і швидкість АДФ (5 мкМ)-індукованої агрегації тромбоцитів також підвищувались на 35,3% і 30,5% відповідно ($p < 0,05$). Результати дослідження також показали, що у щурів з експериментальною моделлю гіперагрегації

рівень основного стабільного метаболіту тромбоксану A_2 в сечі (11-дегідро-тромбоксану B_2) збільшувався в 3,34 рази ($p < 0,05$), у порівнянні з групою інтактних тварин (табл. 2). Аналіз показників отриманих агрегатограм виявив, що внутрішньошлункове введення шурам як АСК (10 мг/кг), так і її комбінації з тіотріазоліном (2,5 мг/кг) призводить до пригнічення агрегації тромбоцитів при використанні всіх основних індукторів (АДФ, колаген та арахідонова кислота). При цьому, різні параметри агрегації (максимальний ступінь і швидкість) змінювались по-різному, залежно від індуктора. Однак, загальною закономірністю було те, що комбінований препарат АСК + тіотріазолін за антиагрегантною дією перевершував монопрепарат АСК (табл. 1). Зокрема, максимальний ступінь колаген-, АДФ (20 мкМ)-, АДФ (5 мкМ)- та АК-індукованої агрегації в групі комбінованого препарату був менший на 23,7% ($p < 0,05$), 37,1% ($p < 0,05$), 42,9% ($p < 0,05$) та 52,7% ($p < 0,05$), у порівнянні з групою монопрепарату АСК. Показники швидкості агрегації тромбоцитів у групі комбінації АСК + тіотріазолін також були достовірно нижчими, в порівнянні з групою монопрепарату АСК. Основний біохімічний маркер тромбоутворення (11-дегідро-тромбоксан B_2 у сечі) при застосуванні комбінованого препарату був достовірно нижчим, ніж при використанні монопрепарату АСК. Зокрема, рівень 11-дегідро-Тх B_2 у групі АСК знижувався на 70,3% ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем, у той час як у групі АСК + тіотріазолін – на 92,4% ($p < 0,05$) (табл. 2).

Дослідження ульцерогенної дії препаратів показало, що комбінований препарат за впливом на виразковий індекс (показник гастротоксичності) мав перевагу над монопрепаратом АСК. Так, застосування АСК (10 мг/кг) супроводжувалось збільшенням виразкового індексу у щурів у 2,77 рази, в той час як введення комбінованого препарату – лише в 1,18 рази, в порівнянні з контрольною групою (рис. 1).

Отже, результати досліджень показали, що вітчизняний антиоксидантний препарат тіотріазолін здатен посилювати антиагрегантну дію АСК. Цей ефект може бути пояснений здатністю тіотріазоліну стабілізувати мембрани тромбоцитів, зменшуючи тим самим виділення з них арахідонової кислоти, у процесі метаболізму якої утворюється один з



Таблиця 2

Вміст 11-дегідро-тромбоксану B_2 у сечі щурів з експериментальною моделлю гіперагрегації після 5-денного введення АСК і комбінації АСК + тіотріазолін

Препарат	Доза, мг/кг	n	11-дегідро-тромбоксан B_2 , пг/мг креатиніну
Фізіологічний р-н (пасивний контроль)	–	6	292,7 ± 33,5
Алоксановий діабет (активний контроль)	–	6	977,1 ± 30,4#
АСК	10	6	290,4 ± 33,0*
АСК + тіотріазолін	10 + 2,5	6	74,0 ± 5,2*/**

Примітки: # – $p < 0,05$ відносно групи пасивного контролю (фізіологічний р-н); * – $p < 0,05$ відносно групи активного контролю (алоксановий діабет); ** – $p < 0,05$ відносно групи АСК (10 мг/кг); n – кількість тварин у групі.

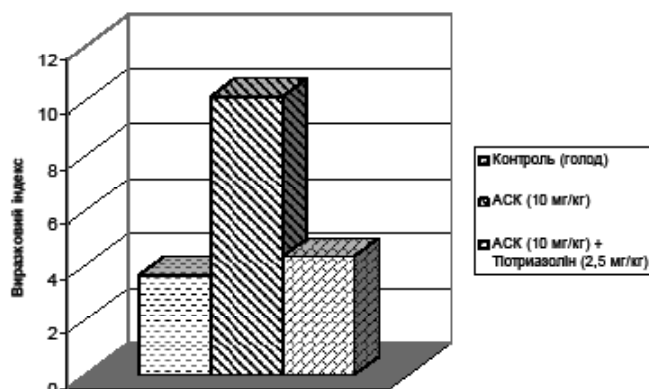


Рис. 1. Вплив АСК і комбінації АСК + тіотріазолін на виразковий індекс (показник гастротоксичності) у щурів.

найсильніших стимуляторів агрегації – тромбоксан A_2 . Це також підтверджується результатами досліджень впливу препаратів на рівень 11-дегідро-Тх B_2 у сечі щурів. Після застосування комбінованого препарату цей показник зменшувався значно сильніше, ніж після застосування монопрепарату АСК. Крім того, важливу роль у посиленні антиагрегантних властивостей АСК тіотріазолом має його антиоксидантна дія. Як відомо, антиоксидантний ефект цього препарату пов'язаний з його антирадикальною дією. Тіотріазолін здатний «ловити» АФК (супероксид-аніон, пероксинітрит) за рахунок наявності в його структурі тільної групи, що може приймати електрони від АФК [9,10]. Антиоксидантна дія комбінованого препарату АСК + тіотріазолін має важливе значення для реалізації його антиагрегантного ефекту, оскільки при цьому розвивається ряд фармакологічних ефектів:

- зменшується безпосередня активація тромбоцитів активними формами кисню [11];
- збільшується біодоступність оксиду азоту внаслідок запобігання його взаємодії з супероксид-аніоном та утворення пероксинітриту [12];
- зменшується активація пероксинітритом тромбоцитарних ферментів фосфоліпази A_2 і ЦОГ-1, що, в свою чергу, призводить до зменшення продукції тромбоксану A_2 [13];
- пригнічується утворення продуктів вільнорадикального окислення арахідонової кислоти (ізопростанів), що

шляхом стимуляції тромбоксанових ТР-рецепторів потенціюють активацію та агрегацію тромбоцитів [14]. Дослідження ульцерогенної дії препаратів виявило, що під впливом тіотріазоліну значно зменшується показник виразкового індексу АСК, що свідчить про гастропротекторну дію вітчизняного антиоксиданту. Цей ефект може бути зумовлений універсальною цитопротекторною дією, здатністю стабілізувати метаболізм клітин слизових оболонок, зменшувати утворення в них активних форм кисню, активувати окислювальне фосфорильовання зі збільшенням утворення АТФ [9,10].

ВИСНОВКИ

Аналіз отриманих результатів дослідження показав, що комбінований препарат АСК (10 мг/кг) + тіотріазолін (2,5 мг/кг) є ефективнішим за антиагрегантною дією та безпечним відносно слизової оболонки шлунка у порівнянні з монопрепаратом АСК (10 мг/кг). Результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність створення нового комбінованого антиагрегантного засобу, що містить АСК і тіотріазолін, та зумовлюють доцільність подальшого глибшого дослідження зазначеного препарату, в тому числі й у практичній медицині.

ЛІТЕРАТУРА

1. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients // *BMJ*. – 2002. – Vol. 324. – P. 71–86.
2. Руководство по кардиологии / Под. ред. Коваленко В.Н. – К.: Морион, 2008. – 614 с.
3. Tseeng S. Aspirin Resistance: Biological and Clinical Implications / S. Tseeng, R. Arora // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. – 2008. – Vol. 13, №1. – P. 5–12.
4. Oxidant Stress and Aspirin-Insensitizing Thromboxane Biosynthesis in Severe Unstable Angina / F. Cipollone, G. Ciabattini, P. Patrignani [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102. – P. 1007–1013.
5. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia*. – 2008. – №51. – P. 216–226.
6. Gachet C. Testing antiplatelet therapy / C. Gachet, B. Aleil // *Eur. Heart J. Supplements*. – 2008. – Vol. 10. – P. A28–A34.
7. Measuring antiplatelet drug effects in the laboratory / P. Harrison, A.L. Frelinger III, M.I. Furman [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2007. – Vol. 120, №3. – P. 323–336.
8. Модель ерозивно-виразкового ураження гастродуоденальної зони / І.Ф. Мецишен, І.М. Яремій, О.І. Волошин [та ін.] // *Експерим. фізіологія та біохімія*. – 2004. – №2. – С. 27–30.
9. Метаболітогруппные препараты / И.А. Мазур, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
10. Тиотриазолін: фармакологіческие аспекты и клиническое применение / И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман [и др.]. – Запорожье, 2005. – 156 с.
11. Freedman J.E. Oxidative Stress and Platelets / J.E. Freedman // *Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28. – P. s11–s16.
12. Krotz F. Reactive Oxygen Species: Players in the Platelet Game / F. Krotz, H. Sohn, U. Pohl // *Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology*. – 2004. – Vol. 24. – P. 1988–1996.
13. Peroxynitrite, the coupling product of nitric oxide and superoxide, activates prostaglandin biosynthesis / L.M. Landino, B.C. Crews, M.D. Timmons [et al.] // *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1996. – Vol. 93, №26. – P. 15069–15074.
14. Cardiovascular Responses to the Isoprostanes iPF2 α -III and iPE2-III Are Mediated via the Thromboxane A2 Receptor In Vivo / L.P. Audoly, B. Rocca, J. Fabre [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 101. – P. 2833–2840.

Відомості про авторів:

Левих А.Е., викладач каф. загальної та клінічної фармації ДДМА.

Подплетня О.А., д. фарм. н., доцент, зав. каф. загальної та клінічної фармації ДДМА.

Кучеренко Л.І., д. фарм. н., НВО «Фарматрон».

Мамчур В.Й., д. мед. н., професор, зав. каф. фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки ДДМА.

Адреса для листування:

Людила Іванівна Кучеренко. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26. Тел.: (061) 224 69 25.