

© Т.С.БАЛАШОВА, А.А.КУБАТИЕВ  
УДК 616.61-78-07:616.155.2-07

## О ВОЗМОЖНОСТИ РЕГУЛЯЦИИ БЛОКАТОРОМ $S_2$ -РЕЦЕПТОРОВ НАФТИДРОФУРИЛОМ АГРЕГАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Т.С.БАЛАШОВА, А.А.КУБАТИЕВ

Кафедра общей патологии и патофизиологии. РМАПО, 123836, Москва, Баррикадная, 2, факс 255-18-00

Исследовано влияние блокатора серотониновых  $S_2$ -рецепторов нафтидрофурила (препарат "Duzodril-retard", фирма "Buk Gulden", Германия) на базальный и тромбин-индуцированный уровень малонового диальдегида тромбоцитов и их агрегационную способность у больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) с выраженными сосудистыми осложнениями и без ангиопатий. После курса лечения наблюдали значительное снижение исходного уровня МДА в тромбоцитах, более выраженное в группе больных без ангиопатий. Показано, что применение препарата "Duzodril-retard" в дозе 200 мг в день в течении 40 дней при ИЗСД не приводит к снижению гиперфункцию тромбоцитов в ответ на большинство индукторов (АДФ 1 и 5 мкМ, адреналина гидрохлорид 1 мкМ, коллаген 4 мкг/мл, ристомидин сульфат 1,2 и 0,9 мг/мл, тромбин 0,5 ед/мл). Выявлено восстановление нормальной реактивности тромбоцитов больных ИЗСД без ангиопатий к адреналину на фоне терапии "Duzodril-retard". Снижение чувствительности к адреналину можно рассматривать как хороший прогностический признак, так как более длительное применение препарата может привести к снижению реактивности тромбоцита к АДФ, на который наблюдается максимальный клеточный ответ. Показано снижение чувствительности тромбоцитов больных без сосудистых осложнений к большим концентрациям ристомидина, что может быть свидетельством некоторой нормализации функциональной активности тромбоцитов и эндотелий-тромбоцитарных взаимодействий. Таким образом "Duzodril-retard" проявляет свойства ангиопротектора при ИЗСД в большей степени, когда сосудистые нарушения клинически не проявились.

**Ключевые слова:** инсулинзависимый сахарный диабет, ангиопатии, агрегация тромбоцитов, базальный и индуцированный малоновый диальдегид тромбоцитов, нафтидрофурил.

**Введение.** Патогенез диабетических ангиопатий по-прежнему остаётся спорным. Изучаются генетическая, гормональная, метаболическая, гипоксическая теории развития сосудистых осложнений. В формирование диабетических ангиопатий вовлечены множество различных факторов: изменение уровня вазоактивных веществ, нарушение вазомоторной чувствительности, тканевая гипоксия [1], повышение адгезивных и агрегационных свойств тромбоцитов и эритроцитов [2,3]. Усиление активации тромбоцитов и повышенная продукция вазоактивных моноаминов (норадреналина, гистамина, серотонина) активированными тромбоцитами [4,5,6] может вносить вклад в повышение локальной концентрации серотонина и катехоламинов. Роль серотонина как вазоконстриктора и медиатора функции тромбоцитов в формировании сосудистых осложнений при сахарном диабете наводит на мысль о возможной роли антисеротониновых веществ в лечении этих осложнений [7]. Взаимодействуя с  $S_2$ -рецепторами, серотонин вызывает агрегацию тромбоцитов [8], спазм сосудов и повышение чувствительности к другим сосудосуживающим агентам. Селективный антагонист  $S_2$ -рецепторов кетансерин ингибирует серотонин-индуцированную агрегацию тромбоцитов и спазм сосудов [8], и, благодаря своему антиагрегационному действию, может снижать активацию тромбоцитов и выброс дополнительных вазоактивных аминов. Показана эффективность применения кетансерина в терапии "диабетической стопы", в ограничении кровоснабжения которой играет роль серотонин [10].

Другой селективный антагонист  $S_2$ -рецепторов нафтидрофурил также обладает способностью тормозить агрегационный ответ тромбоцитов в норме и при периферических повреждениях сосудов [9], и, улучшая микроциркуляцию в сетчатке глаза, замедляет или предотвращает прогрессирование ретинопатии у больных ИЗСД [10]. Целью настоящего исследования было изучение влияния блокатора серотониновых  $S_2$ -рецепторов нафтидрофурила (препарат "Duzodril-retard", фирма "Byk Gulden", ФРГ) на агрегационную способность тромбоцитов больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) с выраженными сосудистыми осложнениями и без ангиопатий.

**Методика.** Обследовано 16 больных (11 женщин, 5 мужчин) и 15 здоровых доноров, средний возраст которых составлял соответственно 26 и 35 лет. Продолжительность заболевания колебалась от 1 до 22 лет. Диабетические сосудистые осложнения наблюдались у 10 больных: диабетическая нефропатия (транзиторная протеинурия) - у 3, диабетическая ретинопатия (диабетическая ангиопатия сетчатки) - у 3, как нефро-, так и ретинопатия развивались у 4 больных. Все больные получали человеческий инсулин в дозе 0,5-0,9 ед/кг массы тела. Забор крови осуществлялся из локтевой вены натощак до начала лечения препаратом "Duzodril-retard", а также через 40 дней терапии (по 100 мг 2 раза в день). Кровь для исследования брали в 3,8% раствор цитрата Na в соотношении 9:1. Для исследования функции тромбоцитов получали богатую тромбоцитами плазму, центрифугируя кровь при 120g 10 мин при 25° С и разводили бедной плазмой до  $2,5 \times 10^8$  клеток/мл. Суспензию тромбоцитов получали центрифугированием при 640g 7 мин богатой тромбоцитами плазмы с антикоагулянтом АСД. Агрегацию тромбоцитов изучали методом Born G.V.R. в модификации O'Brien с графической регистрацией на люми-агрегометре "PICA" ("Chrono-Log, Havertown, P.A", USA) в плазме, обогащенной тромбоцитами, и в суспензии тромбоцитов. В качестве индукторов агрегации использовали АДФ ("Sigma") в конечной концентрации 1 и 5 мкМ, адреналина гидрохлорид ("Sigma") 1 мкМ, коллаген ("Chrono-Log") 4 мкг/мл, ристомидина сульфат (отеч. производства) 1,2 и 0,9 мг/мл, тромбин ("Chrono-Log") 0,5 ед/мл. Уровень малонового диальдегида (МДА) в тромбоцитах, как исходный, так и индуцированный тромбином исследовали спектрофотометрически методом J.B.Smith [11]. Глюкозу крови определяли глюкозооксидантным методом, гликозилированный гемоглобин (HbA1c)-методом колоночной хроматографии с помощью набора "BioRad" (ФРГ). Общий холестерин крови определяли спектрофотометрически с помощью диагностических наборов фирмы "Corma",  $\beta$ -липопротеиды крови - турбидиметрически по методу Бурштейна и Самая. Статистическую обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики на компьютере с помощью программы STATISTICA для Windows. С целью оценки достоверности различий применяли t-критерий Стьюдента для зависимых и независимых переменных, для установления взаимосвязи между показателями использовали метод ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты и обсуждение.** К моменту исследования 3 больных находились в состоянии декомпенсации (гликозилированный гемоглобин - HbA1c с более 10%), 5 больных - в состоянии компенсации (HbA1c с от 6,0% до 8,0 %), 8 больных в состоянии субкомпенсации (HbA1c с от 8,0% до 10,0 %), средний уровень HbA1c  $8,51 \pm 0,58$ . У больных ИЗСД с ангиопатиями и без них степень гликемии была приблизительно одинаковой и снижалась в процессе лечения (HbA1c  $7,49 \pm 0,56$ ). Индекс массы тела у больных без сосудистых осложнений был достоверно больше, чем у больных с ангиопатиями ( $p < 0,01$ ). Количество антител к инсулину у больных ИЗСД значительно выше, чем в норме, уровень с-пептида у больных с ангиопатиями ниже, а иммунореактивный инсулин выше, чем у больных без сосудистых осложнений (табл. 1).

Агрегация тромбоцитов больных ИЗСД на малые концентрации АДФ усилена почти в 2 раза (скорость агрегации V составляла 188,9%,  $p < 0,001$ ; амплитуда В - 279,5%,  $p < 0,001$  по сравнению с тромбоцитами здоровых доноров), увеличение более выражено у больных с ангиопатиями ( $V = 208,9\%$ ,  $p < 0,01$ ;  $B = 330,7\%$ ,  $p < 0,001$ ) (табл.2). Через 40 дней терапии препаратом "Duzodril-retard" агрегационная способность тромбоцитов больных в ответ на 1 мкМ АДФ достоверно увеличивается по сравнению с показателями до лечения (табл.2). Агрегационный ответ на большие концентрации АДФ у больных ИЗСД не отличается от ответа тромбоцитов в норме. Не найдено различий в скорости агрегации тромбоцитов больных ИЗСД к адреналину как до, так и после терапии препаратом, однако отмечено увеличение амплитуды агрегационной кривой в ответ на адреналин у больных ИЗСД ( $B = 166,3\%$ ,  $p < 0,01$ ), которое достоверно снижается у больных без сосудистых осложнений после лечения ( $p < 0,05$ ). Отмечено некоторое увеличение реакции на коллаген тромбоцитов больных без ангиопатий ( $V = 143,0\%$ ,  $p < 0,01$ ;  $B = 127,8$ ,  $p < 0,05$  к контролю), которое не

Клинико-биохимические показатели больных

Таблица 1

Показатель	ИЗСД n=16	ИЗСД с ангиопатиями n=10	ИЗСД без ангиопатий n=6	Доноры n=15
Возраст (в годах)	26,18±1,79	26,30±2,12	26,00±3,46	35,23±5,2
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	20,81±0,69	19,78±0,87	22,52±0,75*	
Продолжительность заболевания (в годах)	13,32±2,56	16,33±3,50	8,30±2,75	
Иммунореактивный инсулин (мк ед/мл)	13,96±2,10	17,02±2,22	8,88±3,49*	3-25
Антитела к инсулину (%)	18,7±4,06*	20,2±5,21*	16,2±6,99	7±3
С-пептид (пмоль/л)	0,24±0,11	0,09±0,03	0,48±0,28*	0,12-1,25
НbA1c до лечения (%)	8,51±0,58	8,53±0,80	8,46±0,79	4,0-6,0
НbA1c после лечения (%)	7,49±0,56	7,66±0,84	7,25±0,67	
Общий холестерин (ммоль/л)	6,05±0,53	6,47±0,84	5,38±0,33	3,1-5,2
β-липопротеиды крови (г/л)	5,97±0,61	6,17±1,00	5,68±0,41	3,0-4,5

\*  $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\* $p<0,001$  по отношению к значению в контроле  
 \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  по отношению к значению у больных с ангиопатиями

зависит от применения препарата. Скорость агрегации тромбоцитов на малые концентрации ристомидина у больных ИЗСД увеличена (207,0%,  $p<0,01$ ) за счет значительного увеличения этого показателя в группе больных без ангиопатий (284,3%,  $p<0,01$  по сравнению с контролем), и сохраняется повышенной после курса терапии. В ответ на большие концентрации ристомидина увеличена скорость и амплитуда агрегации тромбоцитов больных ИЗСД (V-137,0%,  $p<0,1$ , B-151,5%,  $p<0,001$ ), также за счет значительного увеличения показателей в группе больных без ангиопатий (V-166,9%,  $p<0,05$ , B-157%,  $p<0,01$  по сравнению с контролем), и наблюдается снижение скорости агрегации тромбоцитов больных без сосудистых осложнений после курса терапии ( $p<0,01$ ). Увеличена скорость агрегации суспензии тромбоцитов больных ИЗСД на тромбин (V-213,8%,  $p<0,001$ ) и незначительно, но достоверно увеличена амплитуда агрегации (125,0%,  $p<0,05$ ). После лечения амплитуда агрегации снижается у больных без сосудистых осложнений, скорость агрегации сохраняется повышенной. Исходный уровень МДА в тромбоцитах больных ИЗСД увеличен (137,2%,  $p<0,05$ ), в большей степени в группе больных без ангиопатий (169,1%,  $p<0,001$  к контролю, 145,7%,  $p<0,1$  к больным с ангиопатиями). Индуцированный тромбином уровень МДА достоверно повышен только в группе больных без ангиопатий (136,8%,  $p<0,05$  к контролю, 143,4%,  $p<0,05$  к больным ангиопатиями). После курса лечения наблюдается значительное снижение исходного уровня МДА, более выраженное в группе больных без ангиопатий ( $p<0,01$ , T-тест для зависимых переменных) (табл.2).

Не выявлено корреляционной зависимости между уровнем НbA1c, возрастом больного, длительностью заболевания и агрегационными характеристиками тромбоцитов больных. Обнаружена корреляция между уровнем С-пептида и скоростью агрегации тромбоцитов в ответ на ристомидин ( $r=0,61$ ,  $p<0,05$ ); уровнем антител в крови и амплитудой агрегационной кривой тромбоцитов на ристомидин ( $r=0,89$ ,  $p<0,001$ ); содержанием β-липопротеинов и скоростью агрегации тромбоцитов в ответ на малые концентрации АДФ ( $r=-0,77$ ,  $p<0,05$ ), уровнем МДА в сыворотке и скоростью агрегации тромбоцитов на ристомидин 0,9мг/мл ( $r=0,67$ ,  $p<0,05$ ); исходным уровнем МДА в тромбоцитах и скоростью агрегации на ристомидин 0,9мг/мл ( $r=0,58$ ,  $p<0,05$ ).

Повышение агрегации тромбоцитов больных ИЗСД с сосудистыми осложнениями и без осложнений в ответ на различные физиологические стимулы показано многими исследователями и не вызывает сомнений. Однако до сих пор остаются не выясненными причины, вызывающие гиперагрегабельность тромбоцитов при ИЗСД. Многие авторы считают, что основными факторами, способными вызывать нарушение функции тромбоцитов при ИЗСД являются инсулин и глюкоза [12,13]. Высказывается предположение, что нарушение функции тромбоцитов при ИЗСД вызвано недостаточностью инсулина и наличием гликозилированных белков в мембране тромбоцитов. Многочисленные данные указывают на повышенный синтез тромбоксана (ТХА<sub>2</sub>) в тромбоцитах больных ИЗСД и ряд авторов выдвигают его в качестве основного фактора повышения активности тромбо-



Таблица 2

## Функциональные характеристики тромбоцитов больных ИЗСД

Показатель	ИЗСД n=16	ИЗСД с ангиопатиями n=10	ИЗСД без ангиопатии n=6	Доноры n=15
АДФ 1мкМ				
У%/мин	60,82±7,46***	67,25±10,3**	50,12±9,42	32,20±3,26
В% до лечения	49,19±7,60***	58,20±9,85***	34,17±9,96	17,60±3,70
АДФ 1мкМ				
V%/МУН	69,10±5,05***	69,43±6,56***	68,58±8,84*	
В% после лечения	64,92±4,23°	68,38±4,84***	59,40±8,04***	
АДФ 5мкМ				
V%/мин	82,85±6,84	83,91±9,34	81,08±10,56	67,15±4,54
В% до лечения	65,25±7,44	66,7±5,21	62,83±8,63	56,55±3,64
АДФ 5мкМ				
V%/мин	83,94±6,65	79,58±9,0	91,88±9,33	
В% после лечения	70,46±2,84	72,56±3,14	67,15±5,58	
Адреналин				
V%/мин	42,91±6,73	47,85±9,84	34,10±7,24	38,15±3,54
В% до лечения	59,00±6,89**	58,89±8,84*	59,25±12,31	35,75±5,13
Адреналин				
V%/мин	37,49±5,11	35,42±4,06	40,25±11,81	
В% после лечения	44,93±6,09	48,88±7,62	39,67±10,56°	
Коллаген				
V%/мин	84,24±9,87	74,04±13,28	101,25±12,61*	70,81±3,43
В% до лечения	69,75±5,21	65,80±7,38	76,33±6,31*	62,60±2,99
Коллаген				
V%/мин	83,95±7,03	76,96±5,98	95,11±15,79	
В% после лечения	72,54±3,59	70,13±5,15	76,40±4,57*	
Ристомин 1				
V%/мин	58,16±9,33**	45,15±8,25	79,95±18,43**	28,1±1,25
В% до лечения	57,06±6,61	52,14±8,02	65,34±11,58	45,5±6,0
Ристомин 1				
V%/мин	63,00±5,85**	64,28±8,65**	61,22±7,93**	
В% после лечения	43,79±8,01	36,21±8,01	54,40±16,32	
Ристомин 2				
V%/мин	87,34±9,23	76,80±7,97	106,32±15,39*	63,7±10,5
В% до лечения	73,50±4,63***	71,89±4,83***	76,6±10,26**	48,5±5,0
Ристомин 2				
V%/мин	52,88±7,79°	65,44±6,99	42,58±11,90°°	
В% после лечения	69,73±3,84*	72,11±4,86***	66,40±6,69*	
Тромбин				
V%/мин	91,94±8,04***	93,46±12,08**	89,4±10,72***	43,00±7,30
В% до лечения	76,38±3,07*	73,0±4,55*	82,0±2,45***	60,95±5,75
Тромбин				
V%/мин	93,18±11,39**	* 93,87±14,75***	92,2±20,23*	
В% после лечения	68,5±6,58	73,57±7,32	61,4±12,87	
Исходный МДА тромбоцитов (нмоль/10 <sup>9</sup> кл)				
до лечения	9,47±0,72*	8,01±1,05	11,7±1,78****	6,9±0,2
после лечения	6,87±0,70°°	6,32±0,58°	7,61±1,47°°	
Индукцированный МДА тромбоцитов (нмоль/10 <sup>9</sup> кл)				
до лечения	10,18±0,97	8,68±1,06	12,45±1,5**	9,1±0,6
после лечения	9,99±1,09	8,15±1,08	12,22±1,78**	

\* p&lt;0,05, \*\*p&lt;0,01, \*\*\*p&lt;0,001 по отношению к значению в контроле

°p&lt;0,05, °°p&lt;0,01 по отношению к соответствующим значениям до лечения

\*p&lt;0,05 по отношению к значению у больных с ангиопатиями

Ристомин 1 - 0,9 мг/мл; ристомин 2 - 1,2 мг/мл



цитов при ИЗСД [12]. Некоторые исследования указывают на тесную взаимосвязь между чувствительностью тромбоцитов к агонистам и уровнем липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [14]. Кроме того, тромбоциты больных ИЗСД в большей степени утилизируют свободные жирные кислоты, что также коррелирует с их гиперактивностью [15]. Нарушение утилизации липидов приводит к изменению отношения свободного холестерина к фосфолипидам в мембране тромбоцитов больных ИЗСД [16], и именно этот показатель, по мнению ряда авторов, играет важную роль в чувствительности тромбоцитов к индукторам [13]. Усиление агрегационной активности тромбоцитов и повышенный синтез  $\text{TXA}_2$  при ИЗСД связывают с образованием комплексов инсулин-антитела к инсулину и их ассоциацию с тромбоцитами [17]. Повышение чувствительности тромбоцитов к агонистам *in vivo* у больных ИЗСД сопровождается повышенным выбросом из тромбоцитов биологически активных соединений, которые в свою очередь вызывают усиление агрегационных свойств тромбоцитов. Так, показано, что тромбоциты больных ИЗСД высвобождают больше норадреналина [6], гистамина [5], серотонина [4], АДФ [18]. По нашим данным тромбоциты больных ИЗСД обладают повышенной чувствительностью практически ко всем использованным индукторам, однако выявляются различия в ответе тромбоцитов на индукторы в зависимости от наличия у больных сосудистых осложнений: тромбоциты больных без ангиопатий проявляют большую чувствительность к коллагену и ристомичину, но несколько меньшую к АДФ. До настоящего времени среди исследователей нет единого мнения, имеются ли нарушения агрегации тромбоцитов у больных ИЗСД без ангиопатий, так как в некоторых работах не найдено нарушения агрегационных свойств тромбоцитов у больных ИЗСД без сосудистых осложнений. Наряду с этим многочисленные исследования указывают на повышение агрегации тромбоцитов больных без осложнений, и предполагают, что, если нарушения агрегации тромбоцитов влияют на патогенез микроангиопатий, то они возникают до развития сосудистых осложнений [1]. Поскольку имеются определённые трудности по определению выраженности атеросклеротических изменений в сосудах, многие авторы рекомендуют определять в плазме больных уровень фактора III, повышение которого свидетельствует о наличии субклинических форм сосудистых заболеваний. Не исключено, что в нашем исследовании среди 6 больных без клинически выраженных сосудистых осложнений есть те, у кого эти осложнения начинают формироваться, свидетельством этого может быть повышенная чувствительность тромбоцитов к коллагену и ристомичину, так как адгезия тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу происходит при взаимодействии рецепторов на тромбоците с лигандами субэндотелиального матрикса, основными из которых являются коллаген и фактор Виллебранда. В литературе также есть данные, свидетельствующие о наличии повышенной чувствительности тромбоцитов больных без сосудистых осложнений к коллагену [1].

Таким образом, при ИЗСД тромбоциты подвержены многочисленным воздействиям со стороны различных факторов, к которым на мембране тромбоцита существуют рецепторы, и лиганд-рецепторные взаимодействия вызывают многочисленные изменения внутри тромбоцита. При ИЗСД в тромбоцитах отмечено нарушение метаболизма фосфоинозитола [19], повышение концентрации внутриклеточного кальция [20,21], снижение содержания циклических адениннуклеотидов [22]. Происходит реорганизация цитоскелета, повышается содержание F-актина в тромбоцитах больных ИЗСД, что свидетельствует о состоянии гиперактивности [23]; на поверхности мембраны активированного тромбоцита экспрессируются  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые участки высокоаффинного связывания фибриногена, взаимодействие с которыми фибриногена и других адгезивных молекул, таких как фактор Виллебранда и витронектин является финальным этапом в агрегации тромбоцитов [24].

Учитывая многообразие факторов, вызывающих гиперагрегабельность тромбоцитов при ИЗСД, и многочисленные метаболические изменения в активированной клетке, трудно ожидать эффективного влияния на гиперфункцию тромбоцита препарата с селективным механизмом действия. В опытах *in vitro* показано, что нафтидрофурил в больших концентрациях вызывает торможение агрегации тромбоцитов в ответ на АДФ и адреналин. В исследовании *in vivo* также показано снижение агрегации тромбоцитов на АДФ и адреналин у больных с периферическими артериальными окклюзиями при инфузионном введении нафтидрофурила в течении 7 дней в дозе 600 мг в день [9]. Ранее нами была показана эффективность препарата "Duzodril-retard" в отношении нормализации уровня МДА в сыворотке больных ИЗСД. Полученный результат можно объяснить уменьшением тканевой гипоксии в результате вазодилатации, нормализации фильтруемости крови и метаболизма в области с нарушенным кровообращением [25]. Несмотря на снижение прооксидантов плазмы после курса терапии препаратом "Duzodril-retard", уровень МДА в мем-

бране эритроцитов сохранялся высоким. Таким образом, было высказано предположение, что применение нафтидрофурила в качестве ангиопротектора у больных ИЗСД лишь частично устраняет причины формирования ангиопатий. Уменьшая степень гипоксии, нормализуя уровень перекисных процессов в плазме, нафтидрофурил, по-видимому, устраняет ингибирующее влияние повышенного содержания перекисных продуктов на синтез простагличина в эндотелии, тем самым выступает не только как вазодилататор, но и истинный ангиопротектор. Однако сохраняется риск развития ангиопатий вследствие нарушения перекисного статуса эритроцита и реологических свойств крови [26,27]. На основании результатов настоящего исследования можно сделать вывод, что при ИЗСД применение препарата "Duzodril-retard" в дозе 200 мг в день в течении 40 дней не приводит к нормализации функции тромбоцитов. Более того, отмечено увеличение чувствительности тромбоцитов к АДФ, причём более выраженное усиление сенсibilизации тромбоцитов наблюдалось в группе больных без ангиопатий. Трудно объяснить полученный эффект, но анализ литературных данных показал, что аналогичная парадоксальная реакция тромбоцитов наблюдалась в других исследованиях при использовании препаратов, снижающих гиперагрегабельность тромбоцитов. Так, применение антагониста кальция нисолдипина при ИЗСД вызывает повышение чувствительности тромбоцитов к АДФ и адреналину, несмотря на то, что теоретически можно было ожидать снижение гиперагрегабельности тромбоцитов из-за уменьшения содержания внутриклеточного кальция [28]. Показано увеличение агрегации тромбоцитов больных ИЗСД на малые концентрации АДФ при лечении витамином Е, несмотря на снижение синтеза МДА в тромбоцитах и снижение агрегаций на большие дозы АДФ [29]. Однако выявленное в наших исследованиях восстановление нормальной реактивности тромбоцитов больных ИЗСД к адреналину можно рассматривать как хороший прогностический признак, так как адреналин усиливает агрегацию тромбоцитов в ответ на АДФ [30], и снижение чувствительности к адреналину может привести при более длительном применении препарата к снижению реактивности тромбоцита к АДФ. Снижение чувствительности тромбоцитов больных ИЗСД к адреналину, возможно, объясняется тем, что  $\alpha$ -адренорецепторы похожи по связывающим свойствам на  $S_2$ -рецепторы, и лиганды к  $S_2$ -рецепторам часто являются и лигандами к  $\alpha$ -адренорецепторам. Так, селективный антагонист  $S_2$ -рецепторов кетансерин обладает свойствами ингибитора адренорецепторов и его протективные свойства объясняются взаимодействием с сосудистыми и тромбоцитарными адрено- и серотонинэргическими рецепторами и предотвращением синергичного взаимодействия между серотонином и катехоламинами на сосудистом и тромбоцитарном уровне [31]. Выявленное в наших исследованиях восстановление нормальной чувствительности к большим концентрациям ристомидина может быть свидетельством некоторой нормализации функциональной активности тромбоцитов и эндотелий-тромбоцитарных взаимодействий у больных без сосудистых осложнений. На поверхности тромбоцита локализованы рецепторы, которые с высоким сродством связываются с фактором Виллебранда, что обеспечивает взаимодействие активированных тромбоцитов и субэндотелиальных элементов сосудистой стенки. Ристомидин-индуцированная агрегация тромбоцитов рассматривается как критерий взаимодействия активированных тромбоцитов с сосудистым эндотелием [24]. Так как локализация сосудистого эндотелия делает его первой мишенью для свободнорадикальных продуктов, циркулирующих в кровеносном русле, и оксиданты вызывают повреждение эндотелия, увеличивают проницаемость сосудов, ингибируют высвобождение ПГИ2 и NOЧ, снижают содержание глутатиона и АТФ в эндотелии, усиливают в нём процессы ПОЛ [32] и повышают адгезивные свойства [33], то снижение свободнорадикальных реакций в сыворотке крови под действием препарата "Duzodril-retard" может сопровождаться нормализацией названных нарушений, что находит отражение в снижении ристомидин-индуцированной агрегации тромбоцитов больных без ангиопатий. На наличие взаимосвязи между ПОЛ и реактивностью тромбоцитов на ристомидин указывает выявленная корреляция между уровнем МДА в сыворотке и МДА в тромбоцитах и реакцией тромбоцитов на ристомидин. Однако, несмотря на то, что ПОЛ в сыворотке снижается под действием препарата "Duzodril-retard" одинаково в обеих группах независимо от наличия сосудистых осложнений, снижение ристомидин-индуцированной агрегации отмечено только в группе больных без ангиопатий. Таким образом, "Duzodril-retard" проявляет свойства ангиопротектора при ИЗСД в большей степени, когда сосудистые нарушения клинически не проявились, что позволяет рекомендовать этот препарат для профилактики развития ангиопатий. Возможно, меньшая эффективность препарата как ангиопротектора в группе больных с сосудистыми осложнениями вызвана лишь коротким сроком использования препарата. Так, есть



данные, что нафтидрофурил замедляет или предотвращает прогрессирование ретинопатии у больных ИЗСД при оральном применении препарата более 6 месяцев. Авторы исследования приходят к выводу, что это минимальный срок, необходимый для достижения медикаментозного эффекта в форме стабилизации картины болезни [10].

Авторы выражают глубокую признательность врачу-эндокринологу I больницы МПС Смирновой В.Ю. за клиническое обследование больных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Zatz R., Brenner B.M. // Am.J. Med. -1986.-v.80.-P.443-453
2. Butkus A., Skrinska V.A., Schumacher P. // Thrombosis Res.-1980.-V. 19.-P.211-223
3. Betteridge D.J., Eltahir K.E.H., Reckless J.P.O., et al. // Eur. J. Clin. Invest.-1982.-v.12.-P.395-398
4. Barradas M.A., Gill D.S., Fonseca V.A., et al. // Eur.J. Clin. Invest.-1988.-v.18(4)-P. 399-404
5. Gill D.S., Barradas M.A., Fonseca V.A., et al. // Metabolism.-1989.-V. 38(3)-P.243-247
6. Smith C.C., Wilson A.P., Prichard B.N., et al. // Clin. Sci.-1989.-V.76(6).-P.603-607
7. Schneider S.H., Tendler M., Apelian A., et al. // J.Clin.Pharmacol.-1985.-V.25.-P.413-417
8. De Clerck F., David J.L., Janssen P.A.//Agents and Actions.-1982.-V.12.-P.388-397
9. Janka H.U., Rinninger F., Mehnert H. //Ther. Gegenw.-1982-V.121-S.422-433
10. Klein M., Hirche H.//Klin MblAugenheilk.-1985-V.187-P.195
11. Smith J.B.//Aj.Clin.Med. -1976. -v.88(2)-P. 167-172
12. Hendra T., Betteridge D.S.// Prost.Leuk.Essent.Fatty Acids.-1989.-V.35.-P.197-212
13. Notarbartolo A., Davi G., Aversa M.//Advances in Vascular Pathology -1989.-P.625-630
14. Watanabe J., Wohltmann H.J., Klein R.L., et al. // Diabetes.-1988.-V.37.-P.1652-1659
15. Musso R., Cacciola R.R., Giustolisi R., et al. //Prog Clin Biol Res.-1988-V.283.-P.513-518
16. Prisco D., Rogasi P.G., Paniccia R., et al. // Prost.Leuk.Essent.Fatty Acids.-1989.-V.35(1).-P.15-23
17. Triolo G., Davi G., Giardina E., et al. // Diabetes Res.-1989-V. 10(1).-P.1-5
18. Nozaki G., Hiramatsu K., Arimori S. // Scand J Clin Lab Invest -1987-V.47(5).-P.441-445
19. Bastyr E.J., Kadrovske M.M., Derslumer R.C., et al. // Diabetes.-1989.-V.38(9).-P.1097-1102
20. Berg C.N., Njalmarson A., Holm G., et al. // Eur. J. Clin. Invest.-1988.-V.18(1).-P.92-97
21. Кубатиев А.А., Балашова Т.С., Рудько И.А., и др. // Бюлл. эксп. биол.мед.-1996 - №1-С.15-19
22. Чирков Ю., Тишук И., Северина И., Старосельцева Л. // Бюлл. эксп. биол.мед.-1989.-V. 107(3).-С.300-302
23. Spagenberg P., Till U.// Biosci. Rep. -1989-V.9(3)-P.307-313
24. Siess W.//Physiol. Rev. -1989-V.69(1) -P.58-178
25. Кубатиев А.А., Балашова Т.С., Смирнова В.Ю., и др.// Бюлл. эксп. биол.мед.,1996 в печати
26. Budanan M.R., Bertomen M.C., Bastida E. //Agents and Actions.1990.-V.29(1)-P. 16-20.
27. MacRury S.M., Lennie S.E., McColl P., et al.//Diab.Med.-1993.-V.10.-P.21-26
28. Hendra T.J., Oughton J., Jeremy J.Y., et al. // Diabetes Res.-1988-V.8(3)-P.117-122
29. Collette C., Pares-Herbute N., Monnier L.H., et al. //Am. J. Clin. Nutr.-1988-V.47-P.256-261
30. Colman R.W.//FASEB J-1990-V.4-P. 1425-1435
31. Buczo W., Gambio M.C., Gaetano G. // Eur J Pharmacol -1984-V.103-P.261-268
32. Rubanyi M.//Free Radical Biol Med - 1988-V.4-P.107-120
33. Siu K., Janakidev K., Lai L., et al.//Am. J. Physiol. - 1993-V.264-P.L406-L412

#### ON POSSIBLE REGULATION BY 82-RECEPTOR ANTAGONIST NAFTIDROFURIL OF PLATELET AGGREGABILITY IN PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

T.S.Balashova, A.A.Kubatiev

Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Department of General Pathology and Pathophysiology, 123836, Moscow, Barrikadnaya,2, fax. 255-18-00

The actions of  $S_2$ -receptor antagonist naftidrofuril (Duzodril-retard, Byk Gulden, FRG) on both basal and thrombin-induced levels of malondialdehyde in platelets as well as platelet aggregability in patients with insulin-dependent diabetes mellitus with or without angiopathies were studied. Significant decrease in the basal level of MDA was observed after treatment and the effect was more profound in patients without vascular complications. The treatment with Duzodril-retard at daily dose of 200 mg during 40 days was not shown to decrease in platelet hyperfunction in response to the inductors: ADP, 1 and 5  $\mu$  M; adrenaline, 1  $\mu$  M; collagen, 4  $\mu$ g/ml; rystomicine, 0.9 and 1.2 mg/ml; and thrombin 0.5 U/ml. The reduction of hyperreactivity of platelets in response to adrenaline in patients without angiopathies was found out during treatment with Duzodril-retard. This could be referred as positive sign for prognosis because of decrease in sensitivity of platelets to adrenaline may lead to corresponding decrease in reactivity to ADP during long-term usage of naftidrofuril. Platelets of the patients were shown to be hypersensitive to ADP at maximal extent. The decrease in the sensitivity of platelets to large concentrations of rystomicine was found, the fact which may serve as an evident for some normalization of functional activity of platelets as well endothely-platelet interactions in patients without vascular complications. Thus, Duzodril-retard has an activity as angio-protector in most degree at the cases when vascular disturbances are not clinically significant yet.

Key words: insulin-dependent diabetes mellitus, angiopathies, platelet aggregation, basal and induced platelet malondialdehyde, naftidrofuril