

УДК 615.273.55:547.459.5:616.151.511: 615.015.21: 612.084

## ДОЦІЛЬНІСТЬ КОМБІНАЦІЇ СТРЕПТОКІНАЗИ З ГЛЮКОЗАМІНОМ ГІДРОХЛОРИДОМ ПРИ РЕГІОНАРНОМУ ТРОМБОЛІЗИСІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Оклей Д. В., Штриголь С. Ю.

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна*

*Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації*

*Кафедра клінічної фармакології*

[okley@ukr.net](mailto:okley@ukr.net)

Стенозування до 1 кв. мм задньої порожнистої вени нижче впадіння ниркових вен спричиняє у щурів виразний тромбоз цієї судини і її приток. В умовах регіонарного тромболізісу стрептокіназа (150000 МО/кг у хвостову вену) чинить виразну фібринолітичну дію. Вміст Д-димеру в плазмі крові нелікованих тварин в гострій стадії тромбозу (через 30 хв.) не зазнає змін, а комбінація стрептокінази та глюкозаміну гідрохлориду статистично значуще зменшує його на 38,3%. Глюкозаміну гідрохлорид (50 мг/кг внутрішньовенно) не посилює тромболітичний ефект стрептокінази, але чинить сприятливий вплив на стан гемостазу. Результати експериментально обґрунтовують доцільність комбінації стрептокінази із глюкозаміном гідрохлоридом для підвищення якості тромболітичної терапії при венозних тромбозах.

**Ключові слова:** *глюкозаміну гідрохлорид, регіонарний тромболізіс, гострий венозний тромбоз.*

**Вступ.** Тромболітична терапія є методом альтернативного лікування гострого тромбозу в системі нижньої порожнистої вени [1]. Системний тромболізіс при поширеному оклюзивному тромбозі глибоких вен (ТГВ) малоефективний через недостатню площу контакту препарату з тромботичними масами в умовах порушеної регіонарної гемодинаміки. Тому частіше замість системного введення тромболітиків застосовують регіонарний тромболізіс [2]. Незадовільні результати лікування хворих на ТГВ пов'язано з відсутністю загальновизнаного підходу до корекції гемостазіологічних порушень. Тривають пошуки засобів, які протидіють розладам гемостазу. Одним із напрямків вдосконалення лікування ТГВ, на нашу думку, могли б стати препарати глюкозаміну, які мають численні, але недостатньо вивчені позитивні ефекти щодо системи гемостазу [3].

Метою дослідження стало визначення впливу глюкозаміну гідрохлориду (Г г/х) на гемостазіологічні порушення при регіонарному тромболізісі стрептокіназою у гострій фазі експериментального венозного тромбозу.

**Матеріали та методи.** Дослідження виконано на базі ЦНДЛ НФаУ в стандартних умовах операційного блоку віварію. Керувалися правилами та

вимогами біоетики, які регламентують роботу з експериментальними тваринами [4].

Використано 32 рандомбредних щури-самці масою 320-350 г, які склали чотири групи (А, В, С і D) по 8 особин у кожній. Всі маніпуляції виконували на наркотизованих (тіопентал-натрій, 40 мг/кг внутрішньоочеревинно) тваринах. Групу А склали 8 псевдооперованих щурів, яким проводили розтин очеревини та виділення задньої порожнистої вени, але не моделювали тромбоз. У групах В, С і D моделювали ТГВ шляхом накладання лігатури (синтетична нитка 4-0) на поліетиленовому провіднику з площею перерізу 1 мм<sup>2</sup> на ділянку задньої порожнистої вени довжиною 1-1,5 см нижче ниркових вен, що значно звужувало просвіт судини (рис. 1).

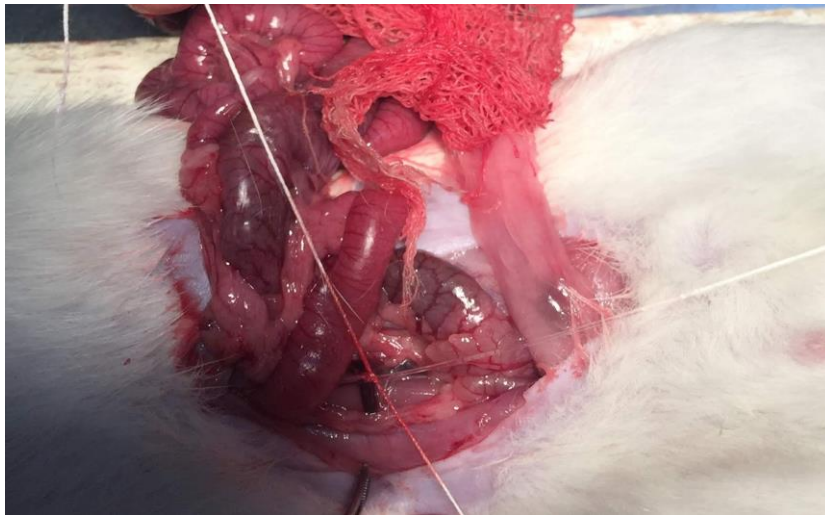


Рис.1. Накладання лігатури на задню порожнисту вену щура

Після накладання лігатури провідник видаляли для запобігання зупинки кровообігу. При цьому швидко формувалася венозний тромб, місце утворення і прикріплення якого чітко проглядалось. Через 10 хв лігатуру розв'язували, рану пошарово ушивали. Тварини групи В (неліковані) формували групу контрольної патології (КП). Щурам груп С, D через 20 хв після видалення лігатури в хвостову вену вводили розчин стрептокінази (ТОВ «ФЗ «Біофарма», м. Біла Церква) в дозі 150 тис. МО на 1 кг маси щура, яка забезпечує тромболізис [5]. Група D включала 8 щурів, яким додатково вводили у шлунок через зонд водний розчин глюкозаміну гідрохлориду (Г г/х) (субстанція виробництва «Sigma-Aldrich», (США) в дозі 50 мг/кг. Глюкозаміну г/х вводили двічі: за 24 години до моделювання тромбозу та за 30 хв до наркозу. Г г/х застосовували як препарат з антитромботичними та ендотелійпротекторними властивостями [3, 6, 7]. Через 30 хв щурів, які ще перебували у стані наркозу, декапітували та збирали кров. У плазмі крові фотооптичним методом визначали вміст фібриногену, активованій частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ),

протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ). Використовували тромбопластин із протромбіновим середнім 14,2 с та міжнародним індексом чутливості 1,2. Д-димер визначали імунотурбідиметричним методом.

Результати обробляли статистично за допомогою програми «STATISTICA 8.0». Для визначення статистичної значущості міжгрупових відмінностей за наявності нормального розподілу використовували критерій Стьюдента, за відсутності – критерій Манна-Вітні. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ . Кількісні дані наведено у вигляді середнього та його стандартної похибки ( $M \pm m$ ) [8].

**Результати та їх обговорення.** Стенозування задньої порожнистої вени спричинило швидкий (протягом кількох хвилин) розвиток виразного тромбозу цієї судини та її приток, який було добре помітно макроскопічно (рис. 2).

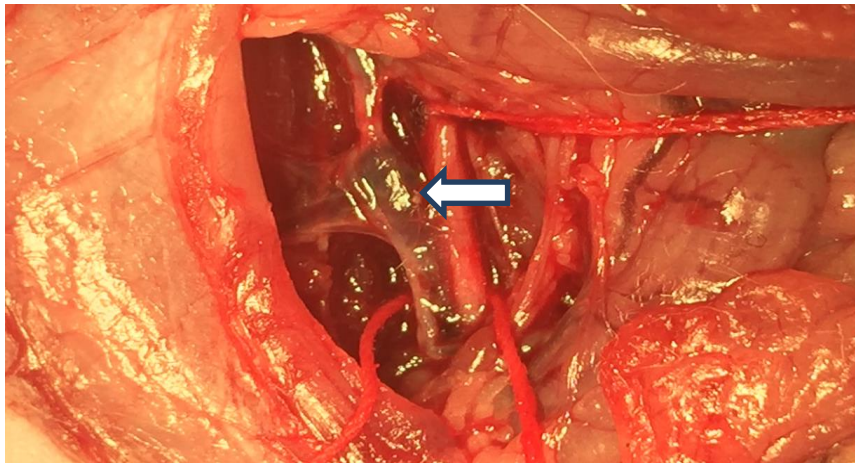


Рис. 2. Тромбоз задньої порожнистої вени щура (стрілка) та її приток після стенозування просвіту судини до  $1 \text{ мм}^2$

Вміст Д-димеру – продукту деградації фібрину – в плазмі крові щурів із моделлю тромбозу наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Вплив стрептокінази та її комбінації з глюкозаміну гідрохлоридом на вміст Д-димеру в крові щурів з гострим венозним тромбозом**

Група, n	Вміст Д-димеру, нг/мл
(А) Псевдооперовані щури (n=6)	110,07±8,12
(В) Контрольна патологія – тромбоз (n=6)	102,45±6,75**
(С) Тромбоз + стрептокіназа (n=7)	68,84±1,75 25 *** ###
Тромбоз + стрептокіназа + глюкозаміну гідрохлорид (n=7)	67,87±3,25*** ###

Примітки. Статистично значущі відмінності з псевдооперованими тваринами: \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; з показником групи контрольної патології: ### –  $p < 0,001$ ; n – кількість вимірювань.

У групі КП цей показник практично не зазнав змін. При лікуванні стрептокіназою вміст Д-димеру статистично значуще знизився в середньому на 37,8 %, за комбінації стрептокінази та Г г/х – на 38,3 %. Отже, у досліджуваному гострому періоді експериментального тромбозу зростання вмісту Д-димеру в крові щурів групи КП не є вирішальним діагностичним критерієм. Така ситуація може бути пов'язана з тим, що руйнування тромбу у цих тварин через 30 хв. після моделювання тромбозу не встигає відбутися. Про останнє свідчать результати гістологічного дослідження тварин групи КП. Зниження вмісту Д-димеру в обох групах, щурів, які, отримували фібринолітичну терапію, вказує на меншу виразність тромбозу. Показники стану коагуляційного гемостазу щурів з експериментальним тромбозом наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

**Вплив стрептокінази та її комбінації з глюкозаміну гідрохлоридом на показники коагулограми щурів з гострим тромбозом глибоких вен системи задньої порожнистої вени**

Показник	Фібриноген, г/л	ПЧ, с	ТЧ, с	АЧТЧ, с
(А) Псевдооперовані щури	2,16±0,32 (n=6)	23,81±1,89 (n=8)	89,72±6,53 (n=6)	34,38±5,70 (n=8)
(В) Контрольна патологія – тромбоз	2,43±0,30 (n=5)	19,83±0,65 (n=6)	78,75±4,94 (n=6)	26,59±2,31 (n=7)
(С) Тромбоз + стрептокіназа	2,11±0,34 (n=5)	19,26±1,69 (n=7)	61,24±5,68** # (n=7)	25,46±3,38 (n=7)
(Д) Тромбоз + стрептокіназа +глюкозаміну гідрохлорид	3,01±0,33 (n=7)	17,03±0,73** # (n=7)	62,97±2,66** ## (n=7)	22,31±2,48 (n=7)

Примітки. Статистично значущі відмінності з псевдооперованими тваринами: \*\* –  $p < 0,01$ ; з показником групи контрольної патології: # –  $p < 0,05$ ; n – кількість вимірювань.

Вміст фібриногену в плазмі крові в усіх групах коливався в межах фізіологічних значень. У групі КП спостерігали слабку тенденцію до зниження ПЧ, ТЧ та АЧТЧ, що віддзеркалює характерний зсув системи коагуляційного гемостазу на тлі моделі тромбозу.

В обох групах лікованих тварин статистично значущих змін зазнав ТЧ, який характеризує кінцевий етап згортання крові. Цей показник у тварин, що отримували стрептокіназу, зменшився в середньому на 31,7 %, на тлі її комбінації з Г г/х – на 29,8 %. Такі результати, що свідчать про збільшення швидкості перетворення фібриногену на фібрин, ймовірно, можуть бути однією з фаз складної реакції системи гемостазу у відповідь на потужну активацію фібринолізу.

Певне скорочення ПЧ, який віддзеркалює зовнішній шлях згортання крові, що ініціює утворення згустку, може бути пов'язано з використанням у даному дослідженні механізмом моделювання тромбозу – накладанням лігатури на задню порожнисту вену, що, вочевидь, пошкоджує судинну стінку. Показник АЧТЧ, який характеризує переважно внутрішній шлях згортання крові, не зазнавав достовірних змін, хоча й тенденційно зменшувався в усіх групах тварин з експериментальним тромбозом, особливо в групі D (стрептокіназа +Г г/х).

**Висновки.** На моделі гострого тромбозу глибоких вен системи задньої порожнистої вени в щурів, який викликано стенозуванням зазначеної судини, Г г/х у комбінації зі стрептокіназою не посилює фібринолітичну дію, але чинить сприятливий вплив на стан гемостазу. Результати експериментально обґрунтовують доцільність комбінації стрептокінази з Г г/х для підвищення якості тромболітичної дії при венозних тромбозах та обумовлює доцільність подальшого вивчення цього питання.

#### **Перелік використаних джерел інформації:**

1. Comerota A.J. Catheter-directed thrombolysis for iliofemoral deep vein thrombosis: helpful or hurtful? *Expert Rev Hematol.* 2015. Vol. 8, № 2. P. 131-133
2. Lin M., Hsieh J.C., Hanif M., McDaniel A., Chew D.K. Evaluation of thrombolysis using tissue plasminogen activator in lower extremity deep venous thrombosis with concomitant femoral-popliteal venous segment involvement. *J. Vasc. Surg. Ven. Lymph. Disord.* 2017. Vol. 5, № 5. P. 613-620.
3. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиля А.М., Наумов А.В., Рудаков К.В. Хемореактомный анализ антитромботических эффектов глюкозамина сульфата и нестероидных противовоспалительных препаратов. *Современная ревматология.* 2019. Т. 13, № 1. С. 129-134.
4. Денисов С.Д., Морозкина Т.С. Требования к научному эксперименту с использованием животных. *Здравоохранение.* 2001. Т. 4. С. 40-42.
5. Владимирская Т.Э., Адзериho И.Э., Швед И.А., Жавнерко Г.К., Шерстюк Г.В., Веялкина Н.Н., и др. Тромболитическая терапия венозного тромбоза с применением наноконтейнеров: экспериментальное исследование. *Флебология.* 2014. Т. 8, № 3. С. 25-31.

6. Бондарев Е.В., Штрыголь С.Ю. Состояние свертывающей системы крови под действием препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты в условиях локальной холодовой травмы. Of the South-Kazakhstan state pharmaceutical academy Republican Scientific Journal. 2017. Т. 2306. С. 30-37.

7. Бондарев Є.В., Штрыголь С.Ю., Зупанець І.А., Отрішко І.А. Агрегація тромбоцитів під впливом препаратів глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти при гострій холодовій травмі. Клінічна фармація. 2017. № 1. С. 50-56.

8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера; 2006. 312 с.

## **ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ КОМБИНАЦИИ СТРЕПТОКИНАЗЫ С ГЛЮКОЗАМИНОМ ГИДРОХЛОРИДОМ ПРИ РЕГИОНАРНОМ ТРОМБОЛИЗИСЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Окле́й Д. В., Штрыголь С. Ю.**

Стенозирование до 1 мм<sup>2</sup> задней полой вены ниже впадения почечных вен вызывает у крыс выраженный тромбоз этого сосуда и ее притоков. В условиях регионарного тромболизиса стрептокиназа (150000 МЕ/кг в хвостовую вену) оказывает выраженное фибринолитическое действие. Содержание Д-димера в плазме крови нелеченных животных в острой стадии тромбоза (через 30 мин) не изменялось, а комбинация стрептокиназы и глюкозамина гидрохлорида статистически значимо уменьшает его на 38,3 %. Глюкозамина гидрохлорид (50 мг/кг внутривенно) не усиливает тромболитический эффект стрептокиназы, но оказывает благоприятное воздействие на состояние гемостаза. Полученные результаты обосновывают целесообразность комбинации стрептокиназы с глюкозамином гидрохлоридом для повышения качества тромболитической терапии при венозных тромбозах и целесообразность дальнейшего изучения.

***Ключевые слова:** глюкозамина гидрохлорид, регионарный тромболизис, острый венозный тромбоз.*

## **THE EXPEDIENCY OF THE STREPTOKINASE WITH GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE COMBINATION IN REGIONAL THROMBOLYSIS IN EXPERIMENT**

**Oklei D. V., Shtrygol' S. Yu.**

Stenosis up to 1 square. mm posterior vena cava below the inferior renal vein causes rats expressive thrombosis of this vessel and its tributaries. Under the condi-

tions of regional thrombolysis, streptokinase (150,000 IU/kg into the tail vein) has a pronounced fibrinolytic effect. The content of the D-dimer in the blood plasma of untreated animals in the acute stage of thrombosis (after 30 minutes) did not change, and the combination of streptokinase and glucosamine hydrochloride statistically significantly reduces it by 38.3%. Glucosamine hydrochloride (50 mg/kg intragastric) does not enhance the thrombolytic effect of streptokinase, but has a beneficial effect on the state of hemostasis. The results experimentally substantiate the feasibility of a combination of streptokinase with glucosamine hydrochloride to improve the quality of thrombolytic therapy for venous thrombosis.

**Key words:** *glucosamine hydrochloride, regional thrombolysis, acute venous thrombosis.*

УДК 543.544-415.3

## **РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРОИЗВОДНЫХ СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИНЫ МЕТОДОМ ТСХ**

**Мерзликин С. И.<sup>1</sup>, Кучер Т. В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина*

*Кафедра лекарственной и аналитической токсикологии*

*merzlikinserg07@gmail.com*

<sup>2</sup>*ГВУУ «Тернопольский государственный медицинский университет*

*имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины», г. Тернополь, Украина*

*Кафедра фармацевтической химии*

В статье освещены результаты исследований по разработке условий обнаружения глибенкламида, гликлазида и глимепирида методом ТСХ для целей химико-токсикологического анализа. Предложено подвижную фазу состава метиленхлорид-этилацетат-ледяная уксусная кислота (50: 50: 1), которая надежно обеспечивает селективное разделение глибенкламида, гликлазида и глимепирида в тонком слое сорбента. Показана возможность применения высокочувствительных групповых и специфических реагентов для визуализации зон адсорбции исследуемых производных сульфонилмочевины в тонком слое на двух типах хроматографических пластин Merck и Sorbfil. В качестве элюента для элюирования исследуемых веществ из непроявленной зоны адсорбции (для Merck 0,46-0,48 и Sorbfil - 0,40-0,44) предложен метиленхлорид.

**Ключевые слова:** *химико-токсикологический анализ, антидиабетические средства, производные сульфонилмочевины, отравления, метод ТСХ.*

**Введение.** Анализ источников литературы [1, 3, 4] и данных веб-сайтов FDA и patientsville.com свидетельствует об увеличении в последние годы количества отравлений антидиабетическими средствами, в частности производными сульфонилмочевины (ПС): глибенкламидом, гликлазидом и глимепиридом.