

herpes pathogenesis – the study based on enzyme analysis of tissues and eye liquids. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2008; 2: 16–18. (In Russ.)]

6. Терехина Н.А., Реук С.Э., Атаманова Т.И. Сравнительный анализ содержания церулоплазмينا в биологических жидкостях при герпетической инфекции // Казанский мед. ж. – 2013. – Т. 94, №5. – С. 752–754. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Atamanova T.I. Comparative analysis of ceruloplasmin level in biological fluids at herpes infection. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 94 (5): 752–754. (In Russ.)]

7. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А. Использование ферментного анализа слезной жидкости для прогнозирования рецидива герпетического кератита у детей // Вестн. офтальмол. – 2007. – Т. 123, №4. – С. 23–24. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A. Use of tear enzyme assay to predict recurrent herpetic keratitis in children. *Vestnik oftal'mologii*. 2007; 123 (4): 23–24. (In Russ.)]

8. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А. Влияние вирусной инфекции на белковый и минеральный состав слезной жидкости // Клин. лаб. диагност. – 2007. – №9. – С. 75. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A. Influence of viral infection on tear protein and mineral composition. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2007; 9: 75. (In Russ.)]

9. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А., Атаманова Т.И. Белки острой фазы воспаления в слюне детей при герпетическом стоматите и гингивостоматите //

Рос. стомат. ж. – 2010. – №4. – С. 17–19. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A., Atamanova T.I. Acute phase reactants in children's saliva at herpetic stomatitis and gingivostomatitis. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal*. 2010; 4: 17–19. (In Russ.)]

10. Bar J., Hod M., Erman A. et al. Microalbuminuria: prognostic and therapeutic implications in diabetic and hypertensive pregnancy // *Diabetic Med.* – 1995. – Vol. 12. – P. 649–656.

11. Chentoufi A.A., BenMohamed L. Mucosal herpes immunity and immunopathology to ocular and genital herpes simplex virus infections // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – ID 149135.

12. Dati F., Shumann G., Thomas L. et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference range for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470) // *Eur. J. Clin. Chem. Biochem.* – 1996. – Vol. 34. – P. 517–520.

13. Doumas B.T., Watson W.A., Briggs H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green // *Clin. Chim. Acta.* – 1971. – Vol. 31. – P. 87–96.

14. Weichselbaum T.E. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1946. – Vol. 7. – P. 40–49.

15. Whitley R.J., Roizman B. Herpes simplex virus infections // *Lancet.* – 2001. – Vol. 357. – P. 1513–1518.

УДК 612.115: 615.273.53: 615.036.8: 616.151.511

## АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРАГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ *IN VITRO*

Александр Владимирович Самородов\*, Феликс Хусаинович Камиллов, Феркат Адельзянович Халиуллин, Юлия Викторовна Шабалина, Галия Амировна Тимирханова, Данияр Замирович Муратаев

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-857

**Цель.** Изучить антиагрегационную активность и эффективность влияния впервые синтезированной циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты как потенциального антиагреганта на систему гемостаза в условиях гиперагрегации тромбоцитов *in vitro*.

**Методы.** Экспериментальная работа выполнена на крови здоровых доноров-мужчин и 74 пациентов с диагностированным тромбозом различной локализации. Тромбоэластографию образцов цитратной крови в присутствии изучаемых веществ проводили на аппарате TEG 5000. При анализе тромбоэластограмм определяли общую тенденцию коагуляции, функциональную активность тромбоцитов и фибриногена, активность фибринолиза и физико-механические свойства образовавшихся сгустков. Проводили регистрацию аденозиндифосфат, коллаген, адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Анализ агрегатограмм осуществляли с использованием программного обеспечения AGGR. Оценивали общий характер агрегации, значение максимальной агрегации, максимальной скорости агрегации, средний размер тромбоцитарных агрегатов.

**Результаты.** Циклогексиламмониевая соль 2-[3-метил-7-(диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты в условиях *in vitro* проявляла антиагрегационную активность, превышающую показатели препаратов сравнения, и эффективно подавляла гиперкоагуляцию, вызванную избытком тромбина и тканевого фактора.

**Вывод.** Результаты проведенного исследования позволяют установить в условиях *ex vivo* потенциально высокий терапевтический эффект новой циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты при состояниях, сопровождающихся гиперагрегацией тромбоцитов.

**Ключевые слова:** производные 1-этилксантина, система гемостаза, антиагрегационная активность, гиперагрегация тромбоцитов.

## ANTI-AGGREGANT ACTIVITY OF NEW XANTHINE DERIVATIVE UNDER CONDITIONS OF HYPERAGGREGATION OF PLATELETS *IN VITRO*

A.V. Samorodov, F.Kh. Kamilov, F.A. Khaliullin, Yu.V. Shabalina, G.A. Timirkhanova, D.Z. Muratayev  
Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

**Aim.** To study the anti-aggregant activity and the effectiveness of firstly synthesized cyclohexilammonium salt of

2-[1-ethyl-3-methyl-7-(dioxoethyl-3)-xantiny-8-thio]acetic acid as a potential antiplatelet agent under *in vitro* conditions.

**Methods.** Experimental work was carried out on the blood of healthy donors and 74 male patients diagnosed with thrombosis of various localization. Thromboelastography of citrate blood samples was performed in the presence of the test substances on the device TEG 5000. The analysis determined the overall trend of coagulation, functional activity of platelets and fibrinogen, fibrinolytic activity and physico-mechanical properties of clots formed. ADP, collagen-, and epinephrine-induced platelet aggregations were registered. Agregatogramm analysis was performed using software AGGR. We evaluated the general nature of the aggregation, the maximum aggregate, maximum aggregation rate, the average size of platelet aggregates.

**Results.** Cyclohexilammonium salt of 2-[1-ethyl-3-methyl-7-(dioxoethyl-3)-xantiny-8-thio]acetic acid in *in vitro* conditions showed anti-aggregant activity greater than the reference substance, and effectively suppress hypercoagulation caused by an excess of thrombin and tissue factor.

**Conclusion.** The results of the study make it possible to establish in a potentially high *ex vivo* therapeutic effect of a cyclohexilammonium salt of 2-[1-ethyl-3-methyl-7-(dioxoethyl-3)-xantiny-8-thio]acetic acid under conditions involving platelet hyperaggregation.

**Keywords:** xanthine derivatives, hemostasis system, antiplatelet activity, hyperaggregation of platelets.

Наиболее распространённой патологией человека, удерживающей первое место среди причин инвалидизации и смертности, а также в значительной степени определяющей качество и среднюю продолжительность жизни населения, остаются поражения сосудистого генеза [7]. Несмотря на широкий выбор лекарственных препаратов, селективных средств коррекции системы гемостаза на сегодняшний день не существует.

Результаты проведённых ранее исследований, направленных на изучение влияния впервые синтезированных производных ксантина [2], демонстрируют выраженную антиагрегационную и дезагрегационную активность как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* [8]. Логическим продолжением является дальнейшее изучение антитромботических эффектов наиболее активных из них при состояниях, сопровождающихся повышенной активностью системы гемостаза.

Целью настоящей работы была оценка *in vitro* антиагрегационного эффекта нового соединения — циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксоэтил-3)-1-этилксантил-8-тио]уксусной кислоты (соединение I) — на тромбоциты, выделенные из крови пациентов, находящихся в состояниях, сопровождающихся их гиперагрегацией.

Соединение I синтезировано из 8-бром-3-метил-7-(1,1-диоксоэтил-3)-1-этилксантина во 2-й стадии. При кипячении 8-бром-3-метил-7-(1,1-диоксоэтил-3)-1-этилксантина с 2-кратным мольным избытком тиогликолевой кислоты в водной среде в присутствии гидроксида калия образуется 2-[3-метил-7-(1,1-диоксоэтил-3)-1-этилксантил-8-тио]уксусная кислота, взаимодействие которой с циклогексиламином в среде ацетона приводит к образованию циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксоэтил-3)-1-этилксантил-8-тио]уксусной кислоты [5].

В качестве препаратов сравнения в экс-

периментах использовали 3,7-диметил-1-(5-оксогексил)ксантин (пентоксифиллин, ОАО «Дальхимфарм», Россия) и 2-ацетилоксибензойную кислоту (ацетилсалициловую кислоту, «Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко.», Китай).

Работа выполнена в несколько этапов.

На первом этапе в условиях *in vitro* с применением активированной тромбоэластографии провели моделирование гиперактивности системы гемостаза с последующей оценкой эффективности различных групп антиагрегантов и впервые синтезированного соединения. Далее в условиях *ex vivo* осуществили анализ функциональной активности тромбоцитов при различных тромбоэмических процессах для получения тромбоцитов в состоянии гиперагрегации. Опытным путём установили эффективную концентрацию (ЕК50) впервые синтезированного соединения и сравнили с применяемыми в медицине лекарственными препаратами-антиагрегантами, различными по механизму действия (пентоксифиллином, ацетилсалициловой кислотой).

Экспериментальная часть работы в условиях *in vitro* выполнена на крови доноров-мужчин и пациентов с остро возникшим тромбозом. Исследование было одобрено этическим комитетом ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (№2 от 17.10.2012). Информированное согласие было получено у всех участников исследования до забора крови. Моделирование гиперактивности системы гемостаза в условиях *in vitro* методом активированной тромбоэластографии выполнено на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет.

В исследовании, направленном на изучение эффективности потенциальных антиагрегантов в условиях состоявшегося тромбоза, была использована кровь 74 пациентов, находящихся в анестезиолого-реанимационном

отделении I Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова (г. Уфа) в период 2012–2014 гг. со следующими состояниями: острый коронарный синдром – 22 пациента, тромбоз легочной артерии – 29 пациентов, тромбоз глубоких вен/мезентериальный тромбоз – 23 пациента.

Исходные показатели агрегации тромбоцитов госпитализированных пациентов были получены при заборе венозной крови до начала проведения антитромботической/тромболитической терапии, согласно плану проведения интенсивной терапии. Анализу подвергали только результаты на образцах крови пациентов с установленным позже диагнозом, соответствующим указанным выше нозологиям. При выявлении у пациента тромбоцитов в состоянии гиперагрегации проводили определение зависимости «концентрация-эффект» исследуемого соединения и препаратов сравнения с констатацией ЕК50 – концентрации, при которой агрегация тромбоцитов снижается на 50%.

Забор крови осуществляли из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® («Dickinson and Company», США). В качестве стабилизатора венозной крови использовали 3,8% раствор натрия цитрата в соотношении 9:1.

Все тесты проводили на обогащённой и обеднённой тромбоцитами плазме крови. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 100 g в течение 10 мин, бестромбоцитарной плазмы – при 300 g в течение 15 мин. В работе использовали центрифугу ОПН-3.02 (Россия).

Исследование влияния соединения I и препаратов сравнения на агрегацию тромбоцитов в условиях *in vitro* на донорской крови человека осуществляли с помощью лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола 230LA» (г. Москва, Россия) [4] и методики R.A. Markosian и соавт. [6]. В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл, коллаген в концентрации 5 мг/мл и эпинефрин (адреналин) в концентрации 5 мкг/мл производства «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Тромбоэластографию проводили на аппарате TEG 5000 («Haemostatic Corporation», США). При анализе тромбоэластограмм определяли общую тенденцию коагуляции (R), функциональную активность тромбоцитов и фибриногена (MA, Angle), активность

фибринолиза (CLT) и физико-механические свойства образовавшихся сгустков (G). В качестве активатора тромбоэластографии использовали 0,2 М раствор кальция хлорида, рекомбинантный тканевый фактор (Innovin®, «Dade Behring», Германия) и тромбин («Технология-Стандарт», Россия).

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc., США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для описания групп использованы медиана и межквартильный интервал. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса (для независимых наблюдений) и Фрийдмена (для повторных наблюдений). Критический уровень значимости  $p$  для статистических критериев принимали равным 0,05.

Результаты регистрации тромбоэластограмм образцов цитратной крови, активированных тканевым фактором и тромбином (табл. 1), демонстрируют снижение показателя R, характеризующего время образования первых нитей фибрина (представляет собой энзиматическую часть коагуляции). Время R сокращается в среднем на 24% ( $p < 0,001$ ) при внесении тканевого фактора и на 43,5% ( $p < 0,0001$ ) при внесении тромбина.

Показатель Angle, характеризующий скорость роста фибриновой сети и её структурообразование, статистически значимо увеличивается под влиянием активаторов свёртывания. Данный показатель удлиняется в среднем на 15,1% ( $p < 0,001$ ) при действии тканевого фактора и на 23,5% – при действии тромбина ( $p < 0,001$ ).

Показатель MA, характеризующий функциональное состояние фибриногена и активность тромбоцитов, при действии тромбина и тканевого фактора удлиняется в среднем на 22,7% относительно контроля.

Наиболее значимым в нашем исследовании является показатель прочности сгустка – G. Данный показатель в условиях активации свёртывания тканевым фактором и тромбином статистически значимо увеличивается в 2,5 раза.

Результаты, полученные на данном этапе, полностью соотносятся с данными литературы и объясняются особой ролью избытка тромбина и тканевого фактора в развитии тромбоза [3].

Выбранные антиагреганты оказывают различное влияние на показатели активированных тромбоэластограмм. На всех ти-

Таблица 1

Показатели тромбоэластограмм в присутствии изучаемых веществ в зависимости от активатора, Ме (25–75)

Показатель		ЦК, n=7	ЦК + ТФ, n=7	ЦК + ТР, n=7
Контроль	R, мин	12,8 (10,3–15,6)	9,7 (7,4–10,6) <sup>α</sup>	7,2 (5,1–8,7) <sup>β</sup>
	Angle, градусы	44,7 (39,8–49,4)	51,4 (49,1–53,8) <sup>β</sup>	56,3 (53,6–59,8) <sup>β</sup>
	МА, мм	57,3 (54,2–61,2)	69,4 (65,2–71,8) <sup>β</sup>	68,4 (66,1–70,2) <sup>β</sup>
	G, дин/см <sup>2</sup>	5,7 (4,5–8,1)	17,5 (13,6–20,7) <sup>β</sup>	18,6 (16,4–19,2) <sup>α†</sup>
	CLT, мин	38,7 (35,4–42,4)	44,6 (42,3–47,8) <sup>α</sup>	45,6 (43,2–47,4) <sup>α</sup>
Пентоксифиллин	R, мин	14,6 (13,2–15,8)	9,5 (8,4–10,4)	8,4 (7,2–9,4)
	Angle, градусы	33,7 (29,6–35,2)*	43,7 (41,9–45,6)**	47,8 (44,8–48,2)**
	МА, мм	41,8 (39,8–45,6)*	53,7 (51,2–55,6)**	61,7 (59,2–62,8)**
	G, дин/см <sup>2</sup>	4,1 (3,6–4,4)**	11,5 (10,6–13,5)*	13,9 (12,5–14,7)*
	CLT, мин	36,2 (31,2–38,7)	42,1 (39,6–44,2)	43,1 (39,7–44,7)
Ацетилсалициловая кислота	R, мин	13,6 (11,2–14,4)	9,1 (8,5–11,3)	9,3 (8,1–10,7)
	Angle, градусы	33,7 (29,6–35,2)**	46,4 (41,2–48,5)*	41,2 (37,9–44,7)*
	МА, мм	36,3 (31,2–39,5)*	44,7 (41,2–48,5)**	39,5 (37,5–43,1)*
	G, дин/см <sup>2</sup>	3,7 (3,1–4,6)*	8,4 (7,2–9,4)**	7,9 (7,6–8,2)**
	CLT, мин	38,4 (36,7–39,4)	39,6 (37,4–40,2)	36,2 (34,1–39,8)
Соединение I	R, мин	13,7 (11,3–14,2)	8,4 (7,9–9,9)	7,5 (6,1–8,5)
	Angle, градусы	23,6 (21,7–25,8)**	36,4 (35,3–37,2)**	39,7 (32,3–41,6)**
	МА, мм	24,7 (23,5–27,6)**	27,8 (25,6–30,1)**	30,7 (28,1–33,3)**
	G, дин/см <sup>2</sup>	2,5 (2,1–3,4)**	6,7 (5,2–7,6)**	7,2 (6,5–8,3)**
	CLT, мин	37,4 (35,7–37,8)	35,8 (33,2–38,1)	37,4 (34,6–40,2)

Примечание. ЦК – цитратная кровь; ТФ – тканевой фактор; ТР – тромбин. Показатели тромбоэластограмм: R – время до образования первых нитей фибрина; МА – максимальная амплитуда тромбоэластограммы; Angle – угол по касательной к тромбоэластограмме из точки начала образования сгустка, отражающий скорость роста фибриновой сети и её структурообразование; G – показатель прочности сгустка; CLT – активность фибринолиза. <sup>α</sup>p < 0,05; <sup>β</sup>p < 0,001 – ЦК + ТФ или ЦК + ТР в сравнении с ЦК. \*p < 0,05; \*\*p < 0,001 – в сравнении с контролем. <sup>†</sup>p < 0,05 – ЦК + ТФ в сравнении с ЦК + ТР.

Таблица 2

Показатели антиагрегационной активности изученных веществ на крови здоровых доноров и пациентов с тромбозом, Ме (25–75)

Концентрация, М/л		40×10 <sup>-4</sup>	20×10 <sup>-4</sup>	10×10 <sup>-4</sup>	5×10 <sup>-4</sup>	
Антиагрегационная активность, %	Тромбоциты в состоянии гиперагрегации	Пентоксифиллин	42,8* (41,1–44,8)	25,8* (21,5–26,5)	6,9** (4,6–8,1)	0 (0,0–0,0)
		Ацетилсалициловая кислота	51,8** (55,7–61,3)	30,4* (27,8–33,4)	17,9* (16,2–21,4)	0 (0,0–0,0)
		Соединение I	45,0* (41,2–47,6)	31,4* (27,9–35,2)	12,4* (8,5–15,3)	0 (0,0–0,0)
	Интактные тромбоциты	Пентоксифиллин	63,7* <sup>α</sup> (58,9–9,2)	48,4* <sup>β</sup> (42,7–56,5)	12,7** <sup>α</sup> (10,5–15,6)	0 (0,0–0,0)
		Ацетилсалициловая кислота	27,4** <sup>β</sup> (26,8–29,4)	13,5* <sup>β</sup> (12,7–15,2)	10,4* <sup>α</sup> (7,6–13,7)	0 (0,0–0,0)
		Соединение I	100** <sup>β</sup> (100,0–100,0)	69,7* <sup>β</sup> (65,8–74,9)	25,8* <sup>β</sup> (27,4–34,6)	0 (0,0–0,0)

Примечание: \*p < 0,05, \*\*p < 0,001 – в сравнении с концентрацией 40×10<sup>-4</sup> М/л; <sup>α</sup>p < 0,05, <sup>β</sup>p < 0,001 – для групп интактных тромбоцитов и тромбоцитов в состоянии гиперагрегации.

пах активированных тромбоэластограмм наблюдается статистически значимое изменение показателя МА. Действие ацетилсалициловой кислоты и пентоксифиллина характеризуется значимым снижением по-

казателя МА. Однако их антиагрегационная активность эффективнее реализуется при активации свёртывания тканевым фактором в сравнении с тромбином. Ацетилсалициловая кислота в данных условиях экс-

перимента эффективнее пентоксифиллина устраняет гиперкоагуляцию, вызванную избытком тромбина и тканевого фактора. В присутствии антиагрегантов показатели, ответственные за коагуляционный компонент гемостаза (R и Angle), изменений не претерпевают.

Соединение I проявляет антиагрегационную активность, аналогичную препаратам сравнения, — эффективность больше на тромбозастрограмме, активированной тканевым фактором. При этом показатели максимальной амплитуды тромбозастрограммы (МА) статистически значимо снижаются в сравнении с контрольными значениями и препаратами сравнения. Показатель прочности сгустка G в присутствии соединения I практически снижается до значений тромбозастрограмм, регистрируемых без активации тромбином и тканевым фактором. Таким образом, впервые синтезированное соединение I демонстрирует потенциально высокую антитромботическую активность на модели гиперкоагуляции системы гемостаза.

Следующим этапом оценили эффективность новой циклогексиламмониевой соли как потенциального антиагреганта на крови пациентов с состоявшимся тромбозом в условиях *ex vivo* и сравнили с данными, полученными на интактных тромбоцитах здоровых добровольцев.

Результаты исследования эффективности препаратов сравнения и соединения I на исходно компрометированных тромбоцитах и тромбоцитах здоровых доноров представлены в табл. 2.

Аналоговый препарат пентоксифиллин в условиях *in vitro* способен эффективно корректировать гиперактивность тромбоцитов. Концентрация, при которой АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов снижается на 50%, составляет  $40 \times 10^{-4}$  М/л. Сопоставление показателей зависимости «концентрация-эффект» для интактных тромбоцитов и тромбоцитов в состоянии гиперактивности демонстрирует 2-кратное увеличение дозы для достижения аналогичного эффекта. ЕК50 пентоксифиллина в группе контроля составила  $20 \times 10^{-4}$  М/л.

Ацетилсалициловая кислота, аналогично пентоксифиллину, в условиях *in vitro* способна корректировать гиперактивность тромбоцитов. При этом ЕК50 ацетилсалициловой кислоты составляет  $40 \times 10^{-4}$  М/л для контрольной группы и  $20 \times 10^{-4}$  М/л — в условиях гиперактивности тромбоцитов.

Таким образом, эффективность ацетилсалициловой кислоты в условиях *in vitro* при исходно компрометированных тромбоцитах возрастает. На интактных тромбоцитах антиагрегационная активность ацетилсалициловой кислоты в концентрации  $20 \times 10^{-4}$  М/л составляет в среднем 13,5%.

Впервые синтезированное соединение I в условиях *in vitro* проявляет антиагрегационную активность, сравнимую с аналогичными препаратами. При этом наблюдается эффект, подобный пентоксифиллину: ЕК50 для интактных тромбоцитов превышает практически в 2 раза аналогичный показатель для тромбоцитов в состоянии гиперактивности. ЕК50 для соединения I на тромбоцитах в состоянии гиперактивности в среднем составляет  $40 \times 10^{-4}$  М/л.

## ВЫВОД

Применяемые в практической медицине антиагреганты и впервые синтезированное соединение с различной эффективностью способны ингибировать гиперагрегацию тромбоцитов. Результаты проведенного исследования позволяют установить в условиях *ex vivo* потенциально высокий терапевтический эффект новой циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты при различных состояниях, сопровождающихся гиперагрегацией тромбоцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Камилев Ф.Х., Тимирханова Г.А., Самородова А.И. и др. Антиагрегационная активность новой циклогексиламмониевой соли на основе 1-этилксантина на систему гемостаза в условиях *in vitro* // Казанский мед. ж. — 2013. — №5. — С. 692-695. [Kamilov F.Kh., Timirkhanova G.A., Samorodova A.I. et al. Antiaggregatory activity of new 1-ethylxanthine cyclohexylammonium salt *in vitro*. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 5: 692-695. (In Russ.)]
2. Халиуллин Ф.А., Муртаев Д.З., Шабалина Ю.В. и др. Циклогексиламмониевая соль 2-[3-метил-7-(1,1-диоксотетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты, проявляющая антитромбоэмболическое действие. Патент №2504546С1. Бюлл. №2 от 20.01.2014. [Khaliullin F.A., Murtaev D.Z., Shabalina Yu.V. Tsiklogeksilammonievaya salt of 2-[3-methyl-7-(1,1-dioxotetaniyl-3)-1-ethylxanthinyl-8-thio]acetic acid exhibiting antithromboembolic action. Patent for invention №2504546C1. Issued at 20.01.2014. (In Russ.)]
3. Badimon J.J., Lettino M., Toschi V. et al. Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: Effects of TFPI on plaque thrombogenicity under flow condition // *Circulation*. — 1999. — N 14. — P. 1780-1787.
4. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // *Nature*. — 1962. — Vol. 194. — P. 927-929.
5. Khaliullin F.A., Shabalina Yu.V., Sharafutdinov R.M.

Thietanil protection in synthesis of 1-alkyl-8-bromo-3-methyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dions // *Rus. J. Org. Chem.* — 2010. — N 5. — P. 698–701.

6. *Markosian R.A.* Method for analysis of blood platelet aggregations and apparatus therefor. Patents US5071247. 10.12.1991.

7. *Raskob G.E., Silverstein R., Bratzler D.W. et al.*

Surveillance for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: Recommendations from a national workshop // *Am. J. Prev. Med.* — 2010. — N 38. — P. 502–509.

8. *Samorodov A., Kamilov F., Timirkhanova G. et al.* Antithrombotic activity of new 1-ethylxanthine cyclohexylammonium salt // *FASEB J.* — 2014. — N 28. — 1054.5.

УДК 612.084: 613.72: 612.392.69: 616.153

## ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИНКА НА ЕГО СОДЕРЖАНИЕ В ТКАНЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

Андрей Анатольевич Скальный<sup>1,2</sup>, Алексей Алексеевич Тиньков<sup>3,4</sup>, Юлия Сергеевна Медведева<sup>5</sup>, Ирина Борисовна Алчинова<sup>5</sup>, Евгений Юрьевич Бонитенко<sup>1</sup>, Михаил Юрьевич Карганов<sup>5</sup>, Александр Александрович Никоноров<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства, г. Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>Центр биотической медицины, г. Москва, Россия;

<sup>3</sup>Оренбургский государственный медицинский университет, г. Оренбург, Россия;

<sup>4</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, г. Ярославль, Россия;

<sup>5</sup>Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, г. Москва, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-862

**Цель.** Исследование влияния поступления цинка на фоне физической нагрузки на распределение данного металла в тканях, а также активность сывороточных антиоксидантных ферментов.

**Методы.** Физическую нагрузку моделировали с помощью тредбана. Лабораторные животные были распределены на шесть равных (n=12) групп. Первая и четвертая группы животных не получали цинксодержащие добавки и характеризовались отсутствием и наличием физической нагрузки соответственно. Животные второй и третьей, а также пятой и шестой групп получали аспарагинат цинка в дозах 5 и 15 мг/кг в сутки внутривентрикулярно на фоне низкой и высокой физической активности соответственно. Содержание цинка в органах и тканях определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Активность антиоксидантных ферментов регистрировали спектрофотометрически.

**Результаты.** Введение аспарагината цинка лабораторным животным с низкой физической активностью приводило к дозозависимому повышению содержания металла в паренхиме печени, почек и сыворотке крови, а также увеличению активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови животных. Интенсивная физическая активность в течение 14 сут сопровождалась статистически значимым повышением уровня цинка в сыворотке крови и почке. При 7-дневном введении цинка на фоне физической нагрузки также происходило дозозависимое увеличение его содержания в органах и повышение активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови. Введение цинка на фоне физической нагрузки в течение 14 сут не приводило к статистически значимому изменению баланса металла в организме животных. В отличие от 7-дневного воздействия, сочетание исследуемых факторов в течение 14 сут сопровождалось увеличением активности супероксиддисмутазы, но не глутатионпероксидазы.

**Вывод.** Физическая активность различной длительности оказывает статистически значимое влияние на кинетику цинка при его пероральном введении, а также активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови лабораторных животных.

**Ключевые слова:** цинк, аспарагинат цинка, физическая нагрузка, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаз.

## INFLUENCE OF ZINC ADMINISTRATION ON ITS TISSUE CONCENTRATION AND ACTIVITY OF SERUM ANTIOXIDANT ENZYMES IN RATS AT PHYSICAL ACTIVITY

A.A. Skalny<sup>1,2</sup>, A.A. Tin'kov<sup>3,4</sup>, Yu.S. Medvedeva<sup>5</sup>, I.B. Alchinova<sup>5</sup>, E.Yu. Bonitenko<sup>1</sup>, M.Yu. Karganov<sup>5</sup>, A.A. Nikonorov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of toxicology of Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Centre for Biotic Medicine, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

<sup>4</sup>P.G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl, Russia;

<sup>5</sup>The Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

**Aim.** To investigate the effect of zinc supplementation at physical exercise on the distribution of zinc the metal in the tissues and the activity of serum antioxidant enzymes.

**Methods.** Physical activity was simulated using the treadmill. Laboratory animals were distributed to 6 even (n=12) groups. The first and fourth groups of animals received no zinc-containing additives and were imposed to low and high physical activity, respectively. Animals of the 2 and 3 as well as 5 and 6 groups received 5 and 15 mg/kg/day of zinc asparaginate intragastrically and were imposed to low and high physical activity, respectively. The zinc concentration in the organs and tissues was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. The activity of antioxidant enzymes was determined by spectrophotometry.

**Results.** Administration of zinc asparaginate to the laboratory animals with low physical activity resulted in a dose-