

УДК 615.273



ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 5-HT_{2A}-АНТАГОНИСТА ПРОИЗВОДНОГО 2-МЕТОКСИФЕНИЛ-ИМИДАЗОБЕНЗИМИДАЗОЛА СОЕДИНЕНИЯ РУ-31 И ЦИПРОГЕПТАДИНА В СРАВНЕНИИ С ПЕНТОКСИФИЛЛИНОМ

Д.С. Яковлев^{1,2}, Л.В. Науменко¹, К.Т. Султанова^{1,2}, А.А. Спасов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

² Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр»

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

E-mail: sultanova.pharma@gmail.com

Получено 31.08.2020

Принята к печати 15.10.2020

Мигрень и ее коморбидные состояния патогенетически ассоциированы со многими факторами, в том числе и с гемореологическими нарушениями. Перспективным в отношении профилактики и лечения мигренозных атак и сопутствующих патологий является класс препаратов с 5-HT_{2A}-антагонистическим механизмом действия.

Цель. Изучение и сравнение гемореологической активности противомигренозных средств антагонистов 5-HT_{2A}-рецепторов ципрогептадина и нового средства, завершившего доклинические исследования производного 1-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а]бензимидазола соединения РУ-31.

Материалы и методы. Изучение гемореологической активности соединения РУ-31 и ципрогептадина проводили с использованием экспериментальной модели гипертермии крови кроликов *in vitro*. В качестве препарата сравнения использовался пентоксифиллин. В ходе работы регистрировались параметры вязкости крови, агрегации и деформируемости эритроцитов.

Результаты. Установлено, что соединение РУ-31 в концентрации 1 мкМ снижает вязкость крови на 17% при высоких скоростях сдвига, что по уровню активности сопоставимо с пентоксифиллином в концентрации 100 мкМ. Ципрогептадин в концентрации 1 мкМ также вызывает общую тенденцию снижения вязкости крови при высоких скоростях сдвига, уступая по активности соединению РУ-31 и пентоксифиллину. Соединение РУ-31 в концентрации 1 мкМ оказывает выраженное действие на агрегационную способность эритроцитов в аутологичной плазме, снижая показатель агрегации на 70%, при этом, по уровню активности, не уступая препарату сравнения пентоксифиллину в концентрации 100 мкМ и превосходя препарат ципрогептадин. Для соединения РУ-31 и ципрогептадина не показано значимого влияния на деформируемость эритроцитов.

Заключение. Выявлена способность ципрогептадина и соединения РУ-31 оказывать влияние на реологические свойства крови путём снижения вязкости крови и агрегации эритроцитов.

Ключевые слова: мигрень; 5-HT_{2A}-антагонисты; гемореология; микроциркуляция; деформируемость; агрегация

HEMORHEOLOGICAL PROPERTIES OF THE 5-HT_{2A}-ANTAGONIST OF THE 2-METHOXYPHENYL-IMIDAZOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVE OF THE RU-31 COMPOUND AND CYPROHEPTADINE, IN COMPARISON WITH PENTHOXYPHYLLINE

D.S. Yakovlev^{1,2}, L.V. Naumenko¹, K.T. Sultanova^{1,2}, A.A. Spasov^{1,2}

¹ Volgograd State Medical University

1, Pavshikh Boytsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Volgograd Medical Research Center

1, Pavshikh Boytsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: sultanova.pharma@gmail.com

Received 31 Jul 2020

Accepted 15 Oct 2020

Для цитирования: Д.С. Яковлев, Л.В. Науменко, К.Т. Султанова, А.А. Спасов. Гемореологические свойства 5-HT_{2A}-антагониста производного 2-метоксифенил-имидазобензимидазола соединения РУ-31 и ципрогептадина в сравнении с пентоксифиллином. *Фармация и фармакология*. 2020;8(5):345-353. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-345-353

© Д.С. Яковлев, Л.В. Науменко, К.Т. Султанова, А.А. Спасов, 2020

For citation: D.S. Yakovlev, L.V. Naumenko, K.T. Sultanova, A.A. Spasov. Hemorheological properties of the 5-HT_{2A}-antagonist of the 2-methoxyphenyl-imidazobenzimidazole derivative of the RU-31 compound and cyproheptadine, in comparison with pentoxifylline. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(5):345-353. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-5-345-353

Migraine and its comorbid conditions are pathogenetically associated with many factors, including hemorheological disorders. A class of drugs with a 5-HT_{2A} antagonistic mechanism of action, is promising for the prevention and treatment of migraine attacks and concomitant pathologies.

The aim of the research is to study and compare a hemorheological activity of anti-migraine drugs, antagonists of 5-HT_{2A} receptors of cyproheptadine, and a new drug that completed preclinical studies of the 1-(2-diethylaminoethyl)-2-(4-methoxyphenyl)-imidazo[1,2-a]benzimidazole derivative of the RU-31 compound.

Materials and methods. The study of the hemorheological activity of the RU-31 compound and cyproheptadine, was carried out using an experimental model of rabbit blood hyperthermia *in vitro*. Pentoxifylline was used as a reference drug. In the course of the work, the parameters of blood viscosity, aggregation and deformability of erythrocytes were recorded.

Results. It has been established that in the concentration of 1 μ M, the RU-31 compounds reduce blood viscosity by 17% at high shear rates, which is comparable with pentoxifylline in the concentration of 100 μ M on the activity level. In the concentration of 1 μ M, cyproheptadine also causes a general tendency to reduce blood viscosity at high shear rates, being inferior in activity to the RU-31 compound and pentoxifylline.

In the concentration of 1 μ M, the RU-31 compound has a pronounced effect on the aggregation ability of erythrocytes in autologous plasma, reducing the aggregation rate by 70%, while the level of activity is not inferior to the drug compared to pentoxifylline in the concentration of 100 μ M, and surpasses the drug cyproheptadine. For the RU-31 compound and cyproheptadine, no significant effect on the deformability of erythrocytes has been shown.

Conclusion. The capacity of cyproheptadine and the RU-31 compound to influence the rheological properties of blood by reducing blood viscosity and aggregation of erythrocytes has been revealed.

Keywords: migraine; 5-HT_{2A}-antagonists; hemorheology; microcirculation; deformability; aggregation

ВВЕДЕНИЕ

Мигрень является распространённым заболеванием, связанным с нарушением кровоснабжения головного мозга, с высокой частотой развития инвалидизирующих осложнений. Для неё характерно наличие множества форм и проявлений, а также сопутствующих расстройств, таких как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт [1, 2]. Ассоциативные связи между этими патологическими состояниями показаны данными, полученными в ходе эпидемиологических, клинических исследований, а также, экспериментальными исследованиями их патологической физиологии. Наличие таких факторов, как: курение, женский пол, использование гормональных контрацептивов, высокая частота приступов мигренозных атак и присутствие симптомов ауры значительно повышает риск данных коморбидных состояний, в том числе и ишемического инсульта [3]. Известно, риск развития ишемического инсульта существенно увеличивается при наличии у пациентов мигренозной патологии, особенно сопровождаемой аурой. Нейроваскулярные изменения, возникающие в ходе мигренозных атак, часто сопровождаются повышенной вязкостью крови, что опосредует еще большее ухудшение кровотока в системе мелких сосудов и усугубление течения патологического процесса [4, 5].

Повышенный риск ишемического инсульта, у лиц с мигренью, объясняют несколько гипотез. Во-первых, в процессе развития приступа мигренозной атаки осуществляются нейроваскулярные изменения, которые способны опосредовать возникновение инсульта. Во-вторых, в основе этих связей могут лежать общие патофизиологические аспекты. Так, причиной инсульта могут являться выраженные гемореологические изменения, связанные с гиперкоагуляцией и

повышенной вязкостью крови (при пониженном гематокрите и повышенной агрегации эритроцитов), предрасполагающие к развитию тромбозов в церебральных артериях и возникновению «реологического инсульта» [6, 7].

Известно, что кровь представляет собой неньютоновскую жидкость (её вязкость зависит от скорости сдвига) и проявляет сдвиговое разжижение (снижение вязкости с увеличением скорости или напряжения сдвига), что и определяет особенности её поведения в различных участках сосудистого русла. Принято выделять реологические параметры (вязкость цельной крови, деформируемость и агрегацию эритроцитов), определяющие течение крови в крупных сосудах, диаметр которых более 200 мкм и в микроциркуляторном русле (менее 200 мкм) [8].

Показано, что в мелких артериях, артериолах и венолах снижение вязкости крови на 75% определяется процессами агрегации эритроцитов, на 25% деформируемостью клеток. В тоже время, в обменных капиллярах деформируемость эритроцитов является важной микрореологическим параметром, обеспечивающим эффективный пассаж через сосуды, диаметр которых меньше размера клеток, что обеспечивается деформируемостью мембраны.

Кровь реализует свои функции в организме посредством свойства текучести, её нарушение проявляется в возрастании вязкости крови, которое формируется в результате однонаправленных сдвигов реологических показателей, в том числе и повышения вязкости плазмы, возрастания агрегации эритроцитов и снижения деформируемости их мембран. Развивается «синдром повышенной вязкости крови», который запускает ряд неблагоприятных гемодинамических последствий, таких как замедление потока крови, повышение общего периферического

сопротивления сосудов, повышение артериального давления, депонирование крови в венозном русле. Данные процессы приводят к нарушению микроциркуляции и снижению доставки кислорода к тканям и органам, развивается ишемия. Развитие «синдрома повышенной вязкости крови» и связанные с ним серьезные нарушения реологических свойств наблюдаются при многих заболеваниях, в том числе и развитие ишемического инсульта при транзиторных мигренозных нарушениях. Исходя из этого, актуальным остается вопрос не только терапии мигрени, но и профилактики ее коморбидных состояний [9].

Перспективными в отношении профилактики сопутствующих расстройств при мигренозных атаках является подкласс противомигренозных препаратов с 5-HT₂-блокирующим механизмом действия [10, 11]. В ранее проведенных доклинических исследованиях (проект № 14N08.11.0159) было выявлено новое производное 2-метоксифенил-имидазобензимидазола – 5-HT_{2A}-антагонист – РУ-31, который демонстрирует противомигренозные свойства и позиционируется не только для лечения приступа мигрени, но и для профилактики его возникновения [12, 13]. Известно, что активация серотониновых рецепторов 2 типа вызывает сужение краниальных сосудов, повышает проницаемость капилляров и изменяет агрегацию тромбоцитов. Считается, что блокаторы данного подтипа рецепторов способны оказывать влияние на церебральную микроциркуляцию [14], а также способны ингибировать агрегацию тромбоцитов и эритроцитов, тем самым оказывая положительное влияние на реологические свойства крови, улучшая микроциркуляцию [15–17].

В связи с этим, актуальным является изучение 5-HT_{2A}-антагонистов как биологически активных соединений, способных не только оказывать противомигренозное действие, но и влиять на реологические характеристики крови.

ЦЕЛЬЮ исследования явилось изучение и сравнение гемореологической активности противомигренозных средств, антагонистов 5-HT_{2A}-рецепторов ципрогептадина и соединения РУ-31.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Эксперименты выполнены на образцах крови, взятой у половозрелых кроликов самцов породы Шиншилла, в количестве 6 особей (Питомник лабораторных животных ООО «КролИнфо», Московская область), массой 4,0–4,4 кг. Все животные до начала исследования были адаптированы в течение 14 дней при одиночном содержании в клетках в виварии кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Ежедневно производился контроль клинического состояния животных путем визуального осмотра. Животных с отклонениями, обнаруженными в ходе осмотра, в экспериментальные исследования не включали.

Животных содержали в стандартных условиях согласно постановлению от 29.08.2014 № 51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», а также в соответствии с директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. «О защите животных, использующихся для научных целей».

Животные находились в контролируемых условиях окружающей среды – температура воздуха в пределах 20–22°C и 30–70% относительной влажности. В комнатах содержания животных поддерживался двенадцатичасовой цикл освещения в течение светового дня при совмещенном типе освещения – естественное и люминесцентное. Кролики располагались в стандартных лабораторных клетках для крупных грызунов по 1 особи на подстиле из опилок и имели доступ к поилкам и кормушкам *ad libitum*.

Исследование соответствовало этическим стандартам ответственного комитета по экспериментам человека (институциональным и национальным) и Хельсинкской декларации ВМА. Региональный Исследовательский Этический Комитет Волгоградской области (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (ONHRP)) одобрил проведение данного экспериментального исследования – протокол №2032-2017 от 26 июня 2017 года.

Исследуемые вещества

Исследовалась субстанция соединения РУ-31 (1-(2-диэтиламиноэтил)-2-(4-метоксифенил)-имидазо[1,2-а] бензимидазола) [18], синтезированная в Научно-исследовательском институте физико-органической химии Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону).

Исследование соединения РУ-31 проводилось в концентрации 1 мкМ (концентрация, эквивалентная концентрации ципрогептадина, оказывающей серотонинблокирующее действие [19, 20]). Тестирование проводилось на крови каждого из кроликов с инкубацией непосредственно *in vitro*.

Референтные препараты

В качестве препаратов сравнения использовались 5-HT₂-антагонист – ципрогептадина гидрохлорид (Merck, США) и корректор микроциркуляции – пентоксифиллин (Merck, США).

Для пентоксифиллина в исследованиях *in vitro* показано влияние на реологические свойства крови, а именно снижение её вязкости, изменение микроциркуляции эритроцитов – снижение их агрегации и улучшения деформируемости их мембран, что позволяет использовать данный препарат для подтверждения валидности выбранной тест-системы [21].

Исследование ципрогептадина гидрохлорида проводилось в концентрации 1 мкМ. Препарат срав-

нения пентоксифиллин использовался в концентрации 100 мкМ (концентрация, оказывающая влияние на реологические свойства крови [22]).

Для исследований *in vitro*, навески изучаемого соединения или препаратов сравнения растворялись в дистиллированной воде непосредственно перед экспериментом. Готовые растворы определенной концентрации вводились в кювету лабораторными дозаторами для инкубации *in vitro*, затем проводились исследования, согласно дизайну.

Дизайн исследования

На первом этапе проводили забор крови из краевой ушной вены кроликов методом свободного падения капли. Стабилизацию крови проводили с использованием водного раствора цитрата (3,8%, pH 6,0) в соотношении 9:1. Для перемешивания крови с цитратом проводили немедленное аккуратное переворачивание закрытой пробирки после ее заполнения до требуемого объема. При этом не допускалось образование пены.

На втором этапе осуществляли изучение гемореологической активности соединения РУ-31 и препаратов сравнения с использованием экспериментальной модели гипертермии крови кроликов *in vitro* [23].

Для этого из полученных проб были сформированы группы образцов: группа интактного контроля (6 проб – по одной на образцах крови каждого кролика); контрольная группа (прогретые образцы крови $t=42^{\circ}\text{C}$, 1 час, 6 проб); а также три опытных группы – в кровь вносились пентоксифиллин, соединение РУ-31 и ципрогептадин в исследуемых концентрациях (по 6 проб в каждой группе).

Опытные группы также, как и группа контроля, подвергались гипертермии ($t=42^{\circ}\text{C}$; экспозиция 1 час), после чего для каждого образца регистрировались параметры вязкости крови, агрегации и деформируемости эритроцитов.

Для изучения кажущейся вязкости отбирали необходимое количество образцов крови. Затем кровь центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 20 минут для получения бедной тромбоцитами плазмы и эритроцитарной массы, которые смешивали в соотношении для получения крови со стандартизованным гематокритом 45%. Величину гематокритного показателя определяли, как отношение протяженности столбика эритроцитов к столбику плазмы в ходе центрифугирования капилляров с образцами крови («Elmi», Латвия) в течении 3 минут при 8000 об./мин.

Определение кажущейся вязкости крови проводилось на ротационном анализаторе крови («АКР-2», Россия) при скоростях сдвига от 300c^{-1} до 10c^{-1} (обратных секунд). На основании полученных данных проводился расчет индекса агрегации эритроцитов (ИАЭ, у.е.), представляющего собой отношение вязкости крови при скорости сдвига 10c^{-1} (изменение вязкости в диапазоне зависит в основном от агрегации эритроци-

тов) к вязкости крови при 100c^{-1} (изменение вязкости в этом диапазоне зависит преимущественно опосредовано деформируемостью эритроцитов) [24].

Степень агрегации эритроцитов определяли с помощью метода оптической микроскопии (микроскоп «Биолам Ломо» (Россия)). Для этого, эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием в течение 20 минут при 3000 об./мин., после чего эритроциты трёхкратно отмывали в физиологическом растворе и проводили ресуспендирование в аутологичной плазме. После видеорегистрации (цифровая камера для микроскопа DCM500) оценивали число агрегированных и неагрегированных эритроцитов и производили расчет показателя агрегации (ПА, у.е.) как отношения числа агрегатов к количеству неагрегированных клеток [25].

Метод определения деформируемости эритроцитов

Деформируемость эритроцитов была изучена вискозиметрическим методом и в проточной микрокамере.

Деформируемость эритроцитов вискозиметрическим методом оценивали при стандартизованном гематокрите 45%. Вязкость взвеси эритроцитов измеряли на ротационном вискозиметре при скоростях сдвига 300, 30, 3c^{-1} .

Элонгацию эритроцитов оценивали по индексу элонгации (ИУЭ, у.е.) в проточной микрокамере, которую заполняли суспензией эритроцитов в изотоническом растворе натрия хлорида, содержащем 0,1% альбумина. Производили подачу давления в микрокамеру, тем самым создавая в ней определенное значение напряжения сдвига (τ), которое рассчитывалось по формуле:

$$\tau = \frac{6\eta Q}{Wh^2}$$

где: η – вязкость суспензии (при 20°C – примерно 1,0 мПа·с); Q – объемная скорость в микрокамере; W – ширина проточного канала микрокамеры; h – высота канала, равная толщине прокладки.

Изображение растянутых потоком жидкости эритроцитов, прикрепленных одной точкой с помощью человеческого альбумина ко дну микрокамеры, с микроскопа передавалось через USB-порт в компьютер с использованием цифровой окуляр. После записи изображения проводили его анализ в программе Adobe Photoshop (пробная версия), где определяли длину и ширину элонгированных эритроцитов и рассчитывали индекс элонгации как показатель деформации:

$$\text{ИУЭ} = \frac{L - W}{L + W}$$

где: L – длина деформированной клетки; W – ее ширина [26].

Методы статистического анализа

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism v.8.0 и Microsoft Office Excel 16. Дан-

ные представлены в виде $M \pm m$, где: M – средние значения по группе; m – стандартная ошибка среднего значения. Анализ межгрупповых различий проводился при помощи непараметрического критерия – U -критерий Манна-Уитни. Различия определялись при 0,05% уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние на вязкостные характеристики крови

Термостатирование образцов крови в течение часа приводило к значительному повышению вязкости крови (рис. 1).

Так, выявлено статистически значимое увеличение вязкости прогретых образцов крови во всем диапазоне исследуемых скоростей сдвига – при скорости сдвига 300 с^{-1} вязкость крови возросла на 10%; 200 с^{-1} – на 12%; 100 с^{-1} – на 20%; 50 с^{-1} – на 19%; 20 с^{-1} – на 22%; 10 с^{-1} – на 27%.

При добавлении к образцам крови, подвергшимся тепловому воздействию пентоксифиллина в концентрации 100 мкМ, РУ-31 и ципрогептадина в концентрации 1 мкМ, наблюдается общая тенденция снижения вязкости крови (табл. 1).

Так, при добавлении к обработанным образцам крови пентоксифиллина в концентрации 100 мкМ наблюдалась общая тенденция снижения вязкости крови при высоких и низких скоростях сдвига. При высоких скоростях сдвига от 300 с^{-1} до 100 с^{-1} снижение вязкости крови, в сравнении с контрольными образцами, в среднем составило 17% ($p < 0,05$). В более низком диапазоне скоростей сдвига также наблюдается снижение вязкости крови, однако, достоверных различий по отношению к контрольным измерениям при моделировании патологии выявлено не было.

Показатели вязкости крови под действием соединения РУ-31 в концентрации 1 мкМ достоверно снижались по отношению к контролю при скоростях сдвига от 300 с^{-1} до 100 с^{-1} , снижение в среднем составило 17% ($p < 0,05$).

Ципрогептадин в концентрации 1 мкМ также вызывал общую тенденцию снижения вязкости крови при высоких скоростях сдвига.

Таким образом, выявлено, что пентоксифиллин, соединение РУ-31 и ципрогептадин демонстрируют способность снижать вязкостные характеристики крови во всем диапазоне скоростей сдвига, при этом наиболее значимые различия наблюдаются в диапазоне скоростей сдвига от 300 с^{-1} до 100 с^{-1} . При этом соединение РУ-31 по уровню оказываемого эффекта не уступает пентоксифиллину и незначительно превосходит действие ципрогептадина.

Влияние на параметры агрегации эритроцитов

Моделирование гипервязкости приводило к статистически значимому увеличению показателей агрегации эритроцитов в аутологичной плазме, а именно, на 54% по сравнению с интактными пробами (рис. 2).

При добавлении к образцам крови, подвергшихся тепловому воздействию, пентоксифиллина, соединения РУ-31 и ципрогептадина в исследуемых концентрациях, наблюдается общая тенденция снижения агрегации эритроцитов.

Так, при внесении к образцам крови, подвергшихся моделированию гипервязкости, пентоксифиллина в концентрации 100 мкМ, зафиксировано статистически достоверное снижение агрегации эритроцитов на 73%.

Для соединения РУ-31 в концентрации 1 мкМ наблюдалось статистически значимое снижение данного показателя на 70%.

При внесении ципрогептадина к пробам крови в концентрации 1 мкМ зафиксировано значимое снижение агрегации эритроцитов на 65%.

Таким образом, соединение РУ-31 в концентрации 1 мкМ оказывает выраженное действие на агрегационную способность эритроцитов в аутологичной плазме, по уровню активности не уступая препарату сравнению пентоксифиллину в концентрации 100 мкМ и превосходя препарат сравнения ципрогептадин.

Влияние на деформируемость эритроцитов

Оценка влияния исследуемых соединений на деформируемость эритроцитов проводилась путём измерения вязкости суспензии отмытых эритроцитов, а также путём измерения степени деформации эритроцитов в проточной микрокамере.

При моделировании синдрома повышенной вязкости, выявлено достоверное увеличение вязкости суспензии отмытых эритроцитов во всем диапазоне скоростей сдвига. Так, при скорости 300 с^{-1} данный показатель увеличивается на 10%; при скорости 30 с^{-1} – на 11%; при скорости 3 с^{-1} – на 14% ($p < 0,05$) (табл. 2).

При добавлении пентоксифиллина в концентрации 100 мкМ в прогретые образцы крови кроликов выявлено достоверное снижение вязкости при скоростях сдвига 300 с^{-1} и 3 с^{-1} на 10% и 14% соответственно. Соединение РУ-31 в концентрации 1 мкМ опосредовало статистически незначимое снижение вязкостных показателей, прогретых образцов крови. Для ципрогептадина в концентрации 1 мкМ наблюдалось статистически достоверное снижение вязкости при скоростях сдвига 300 с^{-1} и 3 с^{-1} .

При определении индекса удлинения эритроцитов в проточной микрокамере было выявлено, что при экспериментальном синдроме повышенной вязкости крови индекс удлинения эритроцитов достоверно уменьшался на 32%. Индекс элонгации эритроцитов для пентоксифиллина составил $0,26 \pm 0,010$, что на 37% превосходит данный показатель для контрольной группы (моделирование гипертермии). Соединение РУ-31 и ципрогептадин не изменяли свойств мембран эритроцитов кроликов, статистически значимого увеличения индекса элонгации выявлено не было.

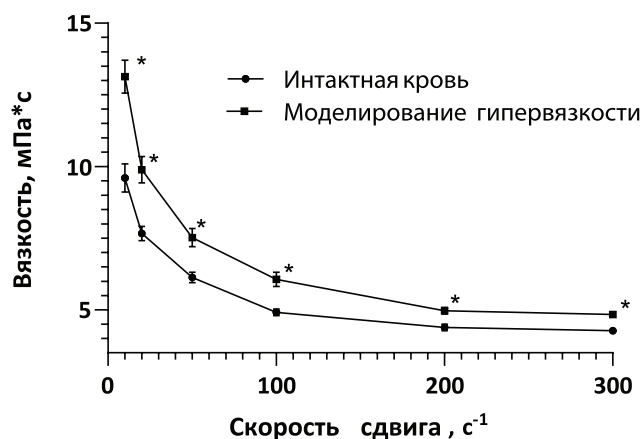


Рисунок 1 – Моделирование «синдрома повышенной вязкости» (температура –42°C; период инкубации – 1 час)

Примечание: с⁻¹ – обратные секунды. Данные представлены в виде М±m (среднее ± стандартная ошибка), n=6. * – данные достоверны по отношению к интактной крови, при непараметрическом распределении, критерий Манна-Уитни (p<0,05)

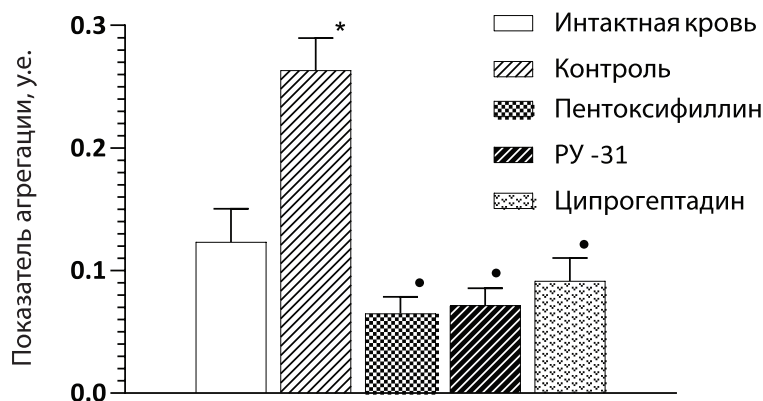


Рисунок 2 – Влияние пентоксифиллина, соединения РУ-31 и ципрогептадина на агрегацию эритроцитов кроликов после теплового воздействия

Примечание: показатель агрегации – отношение количества агрегатов к количеству эритроцитов. Данные представлены в виде М±m (среднее ± стандартная ошибка), n=6; * – данные достоверны по отношению к интактной крови, при непараметрическом распределении, критерий Манна-Уитни (p<0,05); • – различия достоверны относительно показателей контрольных измерений (моделирование гипервязкости), при непараметрическом распределении, с использованием U-критерия Манна-Уитни (p<0,05)

Таблица 1 – Влияние пентоксифиллина, соединения РУ-31 и ципрогептадина на вязкость крови кроликов, подвергшейся тепловому воздействию с целью моделирования «синдрома повышенной вязкости» (температура –42°C; период инкубации – 1 час) *in vitro*

Группа	мПа*с					
	300 с ⁻¹	200 с ⁻¹	100 с ⁻¹	50 с ⁻¹	20 с ⁻¹	10 с ⁻¹
Контроль	4,8±0,11	5,0±0,12	6,1±0,26	7,5±0,32	9,9±0,46	13,1±0,58
Пентоксифиллин	4,0±0,21*	4,1±0,21*	5,1±0,30*	6,5±0,51	8,6±0,47	11,2±0,87
РУ-31	4,1±0,23*	4,2±0,23*	4,9±0,35*	6,3±0,52	8,6±0,75	11,3±1,43
Ципрогептадин	4,2±0,13*	4,3±0,15*	5,2±0,17*	6,8±0,32	9,2±0,41	11,6±0,70

Примечание: с⁻¹ – обратные секунды. Данные представлены в виде М±m (среднее ± стандартная ошибка), n=6; * – различия достоверны относительно показателей контрольных измерений (моделирование гипервязкости), при непараметрическом распределении, с использованием U-критерия Манна-Уитни (p<0,05)

Таблица 2 – Влияние соединения РУ-31 и препаратов сравнения на вязкость суспензии отмытых эритроцитов кроликов

Группа	мПа*с		
	300 с ⁻¹	30 с ⁻¹	3 с ⁻¹
Интактный контроль	2,7±0,06	4,1±0,05	7,2±0,26
Контроль	3,0±0,02*	4,6±0,15*	8,4±0,18*
Пентоксифиллин	2,7±0,10*	4,2±0,24	7,2±0,24*
РУ-31	2,9±0,11	4,4±0,29	7,9±0,36
Ципрогептадин	2,8±0,05*	4,5±0,13	7,8±0,11*

Примечания: с⁻¹ – обратные секунды. Данные представлены в виде М±m (среднее ± стандартная ошибка), n=6; * – данные достоверны по отношению к интактной крови, при непараметрическом распределении, критерий Манна-Уитни (p<0,05); • – различия достоверны относительно показателей контрольных измерений (моделирование гипервязкости), при непараметрическом распределении, с использованием U-критерия Манна-Уитни (p<0,05)

Таким образом, для соединения РУ-31 не выявлено статистически значимых влияний на вязкостные характеристики суспензии эритроцитов и структурно-функциональные свойства их мембран.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, реологический статус крови определяется многими факторами, в том числе вязкостью цельной крови, деформируемостью и агрегацией эритроцитов. Тепловое воздействие на образцы крови приводило к отчетливому изменению данных реологических параметров. Как показано на рисунке 1, термостатирование приводило к статистически достоверному увеличению вязкости образцов крови во всем диапазоне исследуемых скоростей сдвига, что предположительно связано со снижением деформируемости мембран эритроцитов и повышением их агрегации в сосудистом русле [27]. Было выявлено, что термостатирование образцов крови способствовало выраженному повышению агрегационной способности эритроцитов кроликов более чем в 2 раза, а также снижению деформируемости их мембран практически в 1,5 раза, что свидетельствует о снижении вязкостноэластических свойств мембраны эритроцитов.

Выявленные изменения реологических параметров крови в ходе моделирования синдрома повышенной вязкости отражают патологию, развивающуюся в сосудах крупного диаметра и микроциркуляторном русле [28].

Показано, что пентоксифиллин в концентрации 100 мкМ снижал вязкость крови кроликов во всем диапазоне изучаемых скоростей сдвига, а наиболее выраженные изменения наблюдались при высоких скоростях сдвига, что характеризуется изменениями компонентов микрореологии. Это подтверждалось достоверным снижением индекса элонгации эритроцитов, а также достоверным уменьшением показателя их агрегации. Полученные данные о препарате сравнения пентоксифиллине позволили подтвердить работоспособность выбранных тест-систем для исследования гемореологической активности 5-HT₂-антагонистов.

В ходе дальнейшей работы были получены дан-

ные, о влиянии соединения РУ-31 на вязкость цельной крови, а также агрегацию и деформацию эритроцитов в концентрации 1 мкМ. Так, соединение РУ-31 способствовало снижению вязкости крови во всем диапазоне изученных скоростей сдвига. Наиболее выраженные изменения наблюдались при высоких скоростях сдвига. Кроме того, было отмечено выраженное снижение агрегационной способности эритроцитов. Выявленные изменения реологических параметров (вязкость цельной крови и агрегации эритроцитов) при высоких скоростях сдвига, а также снижения вязкости крови при низких скоростях сдвига, что в совокупности свидетельствует о способности соединения РУ-31 улучшать реологические свойства в сосудах крупного калибра и микроциркуляторного русла.

По уровню активности соединение РУ-31 превосходило препарат сравнения ципрогептадин и несущественно уступало пентоксифиллину.

Для препарата сравнения ципрогептадина в концентрации 1 мкМ была показана способность улучшать вязкость крови, наиболее значимые изменения зафиксированы при высоких скоростях сдвига. Кроме того, ципрогептадин незначительно улучшал агрегационные характеристики эритроцитов.

Способность антагонистов серотониновых рецепторов 2А типа снижать вязкость крови, вероятно, связана с возможным влиянием на плазменный компонент данного показателя. Это подтверждается тем, что ципрогептадин и соединение РУ-31 не оказывали выраженного влияния на вязкость суспензии отмытых эритроцитов и деформируемость отмытых эритроцитов, однако статистически значимо снижали агрегацию отмытых эритроцитов в аутологичной плазме.

Выявленная гемореологическая активность соединения РУ-31, сопоставимая с препаратом сравнения пентоксифиллином, позволяет предположить перспективность этого соединения для коррекции реологических нарушений, провоцирующих ухудшение мозгового кровотока, что способно опосредовать снижение риска развития ишемического инсульта у лиц с мигренозной патологией и приостановить усугубление течения патологического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принимая во внимание данные об участии 5-HT₂-рецепторов в патогенезе мигрени, а также их вовлеченности в формирование коморбидных состояний, целесообразным являлось изучение влияния блокаторов 2 типа серотониновых рецепторов на вязкостные характеристики крови, агрегацию эритроцитов, а также деформируемость их мембран. В результате проведенного сравнительного исследования выявлено, что 5-HT_{2/2A}-антагонисты ципрогептадин и соединение РУ-31 способны оказывать влияние на реологические свойства крови intactных животных в условиях, сопровождающихся синдро-

мом повышенной вязкости крови *in vitro*. Выявлено, что соединение РУ-31 снижает вязкость крови с экспериментальным синдромом повышенной вязкости крови *in vitro*, практически не уступая препарату сравнения пентоксифиллину и превосходя 5-HT₂-блокатор ципрогептадин.

Таким образом, данные, полученные в ходе проведенного исследования, свидетельствуют о наличии способности 5-HT_{2/2A}-антагонистов ципрогептадина и соединения РУ-31 оказывать влияния на реологические свойства крови путём снижения вязкости крови и агрегации эритроцитов, что может расширить спектр применения препаратов данной группы.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование частично выполнено в рамках внутреннего научно-исследовательского гранта, финансируемого из средств ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России (приказ 29-КО от 06.02.2020).

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Harriott A.M., Barrett K.M. Dissecting the association between migraine and stroke // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2015. – Vol. 15. – No. 3. – P. 5. DOI: 10.1007/s11910-015-0530-8.
2. Гайнетдинова Д.Д., Тухфатуллина С.И. Клиническое и доплерографическое обследование женщин с цефалгией и антифосфолипидным синдромом // *Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова.* – 2019. – Т. 119. – № 7. – С. 48–53.
3. Табеева Г.Р. Мигрень и инсульт // *Consilium Medicum.* – 2010. – Т. 12. – № 2. – С. 17–22.
4. Raut S., Singh U., Sarmah D., Datta A., Baidya F., Shah B., Bohra M., Jagtap P., Sarkar A., Kalia K., Borah A., Dave K.R., Yavagal D.R., Bhattacharya P. Migraine and Ischemic Stroke: Deciphering the Bidirectional Pathway // *ACS Chem Neurosci.* – 2020. – Vol. 11. – No. 11. – P. 1525–1538. DOI: 10.1021/acchemneuro.0c00137.
5. Садох А.А., Евстигнеев В.В., Головкин А.М., Кистень О.В. Мигренозный инсульт: миф или реальность // *Медицинские новости.* 2019. № 1. С. 12–18.
6. Табеева Г.Р. Цереброваскулярные расстройства, ассоциированные с мигренью // *Медицинский совет.* – 2017. – № 10. – С. 328–330. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-10-32-35.
7. Mawet J. [et al.] Migraine and stroke: in search of shared mechanisms // *Cephalalgia.* – 2015. – Vol. 35. – No. 2. – P. 165–181.
8. Lowe G.D.O. Clinical blood rheology. // *Crc Press.* – 2019. – Vol. 2. – 245 p.
9. Forman S.B., Roy K. Vasoactive and antiplatelet agents // *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy E-Book.* – 2019. – P. 358.
10. Spasov A., Yakovlev D., Brigadirova A., Maltsev D., Agatsarskaya Y. Novel Approaches to the Development of Antimigraine Drugs: A Focus on 5-HT_{2A} Receptor Antagonists. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* – 2019. – Vol. 45. – P. 76–88. DOI: 10.1134/S1068162019020146.
11. Спасов А.А., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В., Мирошников М.В., Султанова К.Т., Жуковская О.Н., Анисимова В.А., Нечаева К.А. Нейротоксикологический профиль 5-HT_{2A}-антагониста производного имидазобензимидазола // *Токсикологический вестник.* – 2019. – Т. 154. – № 1. – С. 23–28. DOI: 10.31857/S0132342320010145.
12. Султанова К.Т., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В., Мирошников М.В., Морковина Я.В., Анисимова В.А., Морковник А.С. Анксиолитические свойства соединения РУ-31 // *Вестник ВолГМУ.* – 2018. – Т. 67. – № 3. – С. 28–32. DOI: 10.19163/1994-9480-2018-3(67)-28-32.
13. Yakovlev D.S., Spasov A.A., Mal'tsev D.V., Anisimova V.A. Effect of 5-HT_{2A} receptor antagonists on blood flow in the carotid vessels upon elevation of serotonin level. *Bull Exp Biol Med.* – 2014. – Vol. 157. – No. 3. – P. 350–2. DOI: 10.1007/s10517-014-2563-4.
14. Мхитарян Э.А. Нафтидрофурил в лечении цереброваскулярных заболеваний // *Неврологический журнал.* – 2015. – Т. 20. – № 6. – С. 41–44.
15. Noble M.I.M., Drake-Holland A.J. Preservation of haemostasis with anti-thrombotic serotonin antagonism. *J Hematol Clin Res.* – 2017. – Vol. 1. – P. 019–025. DOI: 10.29328/journal.jhcr.1001004.
16. Ogawa T, Sugidachi A, Tanaka N, Fujimoto K, Asai F. Effects of R-102444, an orally active 5-HT_{2A} receptor antagonist, in rat models of peripheral vascular disease. *Vascul Pharmacol.* 2004 Feb;41(1):7–13. DOI: 10.1016/j.vph.2004.03.001.
17. Агацарская Я.В., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В., Семенова Ю.В., Салихов Д.А., Султанова К.Т., Анисимова В.А. Нейрорецепторные эффекты антимигренозного агента 9-диэтиламиноэтил-2-(4-метоксифенил) имидазо [1, 2-а] бензимидазола // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* – 2019. – Т. 69. – № 1. – С. 120–124. DOI: 10.19163/1994-9480-2019-1(69)-120-124.
18. Спасов А.А., Анисимова В.А., Яковлев Д.С., Петров В.И.,

- Минкин В.И. Средства, проявляющие свойства антагонистов серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов // Патент России №. 2465901. 2012.
19. Spasov A.A., Yakovlev D.S., Maltsev D.V., Zhukovskaya O.N., Anisimova V.A., Kovalev G.I., Zimin I.A., Morkovina Y.V. The derivatives of imidazo [1, 2-a] benzimidazole as 5-HT_{2A} receptor antagonists // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2016. – Vol. 42. – №. 4. – P. 397–403. DOI: 10.1134/S1068162016040178.
 20. Спасов А.А., Науменко Л.В., Халиуллин Ф.А. Изучение механизма гемобиологического действия нового производного ксантина // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2006. – №4. – С. 3–5.
 21. Плотников М.Б., Алиев О.И., Плотникова Т.М. Методические подходы к изучению веществ, влияющих на реологию крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74. – №12. – С. 36–39.
 22. Муравьев А.В., Ройтман Е.В., Левин В.Н., Маймистова А.А., Булаева С.В., Чучканов Ф.А., Замышляев А.В. Изменение реологических свойств крови у лиц с церебральным атеросклерозом в условиях лекарственной терапии пентоксифиллином (тренталом) // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – №2. – С. 28–33.
 23. Dintenfass L. Modifications of blood rheology during aging and age-related pathological conditions // Aging (Milano). – 1989. – Vol. 1. – No.2. – P. 99–125. DOI: 10.1007/BF03323882.
 24. Лопухин Ю.М., Парфенов А.С., Пешков Ф.И. Анализатор вязкости крови АКР-2. Определение реологических свойств крови // Методические рекомендации. НИИ физ.-хим. медицины. – 1996. – С. 15.
 25. Дворянский С.А., Циркин В.И. Методы изучения агрегационной способности эритроцитов // Вятский медицинский вестник. – 2008. – №3–4.
 26. Муравьев А. В. [и др.] Методы изучения деформируемости эритроцитов в эксперименте и клинике // Клиническая лабораторная диагностика, 2010. №. 1. С. 28–32.
 27. Подзолков В.И., Королева Т.В., Писарев М.В., Кудрявцева М.Г., Затеищикова Д.А. Нарушения микроциркуляции и функционального состояния эритроцитов как фактор сердечно-сосудистого риска при метаболическом синдроме. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2018. – Т. 14. – №4. – С. 591–597. DOI: 20996/1819-6446-2018-14-4-591-597.
 28. Попельнюк Н.С. Давыдкин И.Л., Козлова О.С., Кривова С.П., Кузьмина Т.П., Наумова К.В.1 Проблема изучения процессов микроциркуляции и реологии крови в клинике внутренних болезней // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 8. – С. 25–29. DOI: 10.25694/URMJ.2019.08.22.
 29. Муравьев А.В., Михайлов П.В., Тихомирова И.А. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16. – №. 2. – С. 90–100.

АВТОРЫ

Яковлев Дмитрий Сергеевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-8980-6016. E-mail: dypharm@list.ru

Науменко Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. E-mail: milanaumenko@mail.ru

Султанова Кира Тимуровна – ассистент кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9846-8335. E-mail: sultanova.pharma@gmail.com

Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, академик РАН, З.д.н. РФ, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7185-4826. E-mail: aspasov@mail.ru