

УДК 612.115.3:612.115.064

**АНТИКОАГУЛЯНТНО-ФИБРИНОЛИТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
СОЕДИНЕНИЙ ГЕПАРИНА С АСПИРИНОМ И НИКОТИНОВОЙ
КИСЛОТОЙ В НОРМЕ И ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА****¹Сороколетов С.М., ²Ляпина Л.А.**¹ГБУЗ ГKB им. С.П. Боткина, Москва, e-mail: sorokoletovS-M@mail.ru;²Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, e-mail: lyapinal@mail.ru

Установлено, что комплексный препарат гепарин-аспирин-никотиновая кислота обладает фибриндеполимеризационным и антикоагулянтным действием в условиях *in vitro*. В эксперименте при внутривенном введении здоровым животным (крысам) это соединение вызывало усиление в крови антикоагулянтной и фибринолитической активности как ферментативной, так и неферментативной природы. При пероральном курсовом поступлении препарата в организм больных ишемической болезнью сердца он способствовал, кроме того, повышению уровня тканевого активатора плазминогена в сосудистом русле и оказывал защитное противотромботическое действие. Делается вывод о перспективности изучения соединений гепарина с низкомолекулярными лекарственными антиагрегантами в качестве препаратов, предупреждающих процессы образования тромбов в организме.

Ключевые слова: соединения гепарина, аспирин, никотиновая кислота, антикоагулянт, ишемическая болезнь сердца, фибринолиз

**ANTICOAGULANT-FIBRINOLYTIC EFFECTS OF THE COMPOUNDS
OF HEPARIN WITH ASPIRIN AND NICOTINIC ACID IN NORMAL
AND IN ISCHEMIC HEART DISEASE****¹Sorokoletov S.M., ²Lyapina L.A.**¹GBUS GKB them. S.P. Botkin, Moscow, e-mail: sorokoletovS-M@mail.ru;²Moscow state University M.V. Lomonosov, Moscow, e-mail: lyapinal@mail.ru

It is established that complex heparin-aspirin-nicotinic acid has fibrindepolymerizing and anticoagulant action *in vitro*. In the experiment when administered intravenously to healthy animals (rats) this compound caused increased blood anticoagulant and fibrinolytic activity of enzymatic and nonenzymatic nature. Oral course preparation in the organism of patients with coronary heart disease he has contributed, moreover, to increase the level of tissue plasminogen activator in the bloodstream and had a protective antithrombotic effect. The conclusion about the prospects of the study of complexes of heparin with low-molecular-weight drug as antiplatelet agents drugs that prevent the formation of blood clots in the body.

Keywords: compounds of heparin, aspirin, nicotinic acid, anticoagulant, coronary heart disease, fibrinolysis

Известно, что естественный гликозаминогликан крови – гепарин проявляет антикоагулянтную активность вследствие блокады свертывающей активности тромбина и других коагуляционных белков организма, нормализует уровень холестерина и сахара в крови и увеличивает скорость заживления ран в организме [2].

Гепарин взаимодействует через свои сульфатные и карбоксильные группы с различными аминокислотами, пептидами, белками с образованием комплексных соединений. Введение животным этих соединений с некоторыми аминами и другими низкомолекулярными веществами приводило к повышению антикоагулянтной активности крови, значительно превышающей ее эффект, достигаемый при введении эквивалентной по отношению к комплексу дозы гепарина [5].

В настоящее время еще нет достаточно определенных данных о механизмах действия комплексных соединений гепарина с низкомолекулярными лигандами в проявлении антитромбоцитарных, антикоагулянтных и фибринолитических эффектов плазмы

крови в организме. Предполагается, что они способны действовать в кровотоке как прямо, так и опосредованно, т.е. оказывать свои эффекты через взаимодействие с рецепторами [8]. Известно, что такие лекарства, как никотиновая кислота и аспирин участвуют в снижении агрегации тромбоцитов за счет уменьшения образования тромбоксана A_2 (никотиновая кислота) или ингибирования циклооксигеназы (аспирин) [6]. Никотиновая кислота включается в протетическую группу ферментов, являющихся переносчиками водорода: никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ), регулирует окислительно-восстановительные процессы, тканевое дыхание, синтез белков и жиров, распад гликогена. Угнетает липолиз в жировой ткани, уменьшает скорость синтеза ЛПОНП. Нормализует липидный состав крови: снижает уровень общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов и повышает уровень ЛПВП, обладает антиатерогенными свойствами. Оказывает сосудорасширяющее действие, в т.ч. на сосуды головного мозга,

улучшает микроциркуляцию, повышает фибринолитическую активность крови [7].

Учитывая возможность проявления вазоактивного действия аспирина и никотиновой кислоты через комплексообразование с гепарином, они могут проявить защитное противотромботическое действие в процессах тромбоцитарного и плазменного гемостаза, что имеет немаловажное значение в предупреждении нарушений системы свертывания крови.

В то же время известно, что сердечно-сосудистые заболевания зачастую сопровождаются предтромбозами, приводящими в последующем к тромбозам [1, 3].

Применение отдельных лекарственных веществ разнонаправленного действия – антикоагулянтного, антиагрегантного или фибринолитического при сердечно-сосудистых заболеваниях, хотя и оказывает положительное влияние на состояние системы гемостаза, но при передозировках может привести к нежелательному явлению [9].

Цель работы заключалась в исследовании антикоагулянтно-фибринолитических эффектов соединения гепарина с аспирином

и никотиновой кислотой *in vitro* и при его применении человеку для коррекции нарушений гемостаза при ишемической болезни сердца.

Материалы и методы исследования

В работе использовали препараты отечественного производства – высокомолекулярный гепарин (Г) (учитывая, что одно его моновено имеет мол.массу 600 D), аспирин (А) и никотиновую кислоту (НК). Готовили препарат из трех перечисленных ингредиентов (ГАНК) в молярном соотношении, равном 4.8:1.3:1.0. В условиях *in vitro* при разных разведениях соединения ГАНК (от 10^{-7} до 10^{-1} М) определяли антикоагулянтную по тесту АЧТВ и фибринолитическую (суммарную, неферментативную) активность на пленках нестабилизированного фибрина, а также активность тканевого активатора плазминогена (ТАП).

В условиях *in vivo* внутривенно вводили препараты (опыт – тройное соединение ГАНК в дозе 1.5 мг/кг массы тела и контроль 1 – гепарин, контроль 2 – никотиновая кислота, контроль 3 – аспирин, контроль 4 – 0.85 %-ый физиологический раствор в дозах, эквивалентных их содержанию в соединении) 30 здоровым животным (белым лабораторным крысам-самцам с массой тела 180-200 г). Все исследования проводили в соответствии с этическими принципами и документами, рекомендованными Европейским научным фондом о гуманном отношении к животным.

Таблица 1

Антикоагулянтная активность (по тестам АЧТВ и ТВ), суммарная фибринолитическая активность (СФА), фибриндеполимеризационная активность (ФДПА), активность тканевого активатора плазминогена (ТАП) у здоровых крыс через 10 мин после внутривенного введения им соединения гепарина с аспирином и никотиновой кислотой в дозе 1.5 мг/кг массы тела ($M \pm m$)

Условия эксперимента	АЧТВ, с	СФА, мм ²	ФДПА, мм ²	ТАП, мм ²
Опыт – Введение соединения ГАНК	46.0 ± 2.0** (140%)	50.0 ± 3.0** (138%)	38.3 ± 2.6** (170%)	21.5 ± 0.9** (148%)
Контроль 1 – введение гепарина	39.6 ± 0.7* (120%)	38.0 ± 2.4 (106%)	24.5 ± 0.5 (110%)	19.8 ± 2.8* (137%)
Контроль 2 – никотиновая кислота	35.1 ± 1.9 (106%)	38.7 ± 5.0 (107%)	27.4 ± 1.1* (124%)	16.5 ± 0.6 (114%)
Контроль 3 – аспирин	34.0 ± 0.9 (103%)	39.4 ± 1.7 (109%)	29.3 ± 2.4* (132%)	15.8 ± 3.0 (108%)
Контроль 4 – 0.85 %-ый NaCl	33.0 ± 1.3 (100%)	36.0 ± 2.3 (100%)	22.1 ± 1.5 (100%)	14.4 ± 1.7 (100%)

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля 4 (0.85 %-ый NaCl), принятых за 100 %. Обозначения: ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Таблица 2

Изменение антикоагулянтной активности (по тестам АЧТВ и ТВ), суммарной фибринолитической активности (СФА), фибриндеполимеризационной активности (ФДПА), активности тканевого активатора плазминогена (ТАП) у больных ИБС на фоне перорального приема соединений гепарина с аспирином и никотиновой кислотой ($M \pm m$)

Группы	АЧТВ, с	ТВ, с	СФА, мм ²	ФДПА, мм ²	ТАП, мм ²
Доноры (здоровые)	36.0 ± 2.0	21.4 ± 0.9	50.0 ± 3.0	15.5 ± 2.6	9.5 ± 0.9
Больные ИБС – до лечения	28.1 ± 1.7 (100%)	15.4 ± 0.9 (100%)	35.0 ± 2.4 (100%)	12.5 ± 0.5 (100%)	9.8 ± 2.8 (100%)
Больные ИБС – после лечения	37.0 ± 0.9** (131%)	19.5 ± 0.1** (127%)	58.7 ± 5.8** (167%)	38.3 ± 2.4** (300%)	26.5 ± 0.6** (170%)

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб «до лечения», принятых за 100 %.

В последующем препарат ГАНК вводили 18 больным (10 мужчин и 8 женщин) ишемической болезнью сердца (ИБС) перорально. Разовая лечебная доза препарата составляла 110 мг/70 кг массы тела. При наблюдениях за больными соблюдали этические принципы Хельсинской декларации и информированное согласие больного. Схема лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС) предусматривала прием комплексного препарата 2 раза в сутки до еды в течение 10 суток. Кровь на анализы брали из локтевой вены до лечения и спустя 10 суток после приема комплексных препаратов. В качестве контроля использовали донорскую венозную кровь здоровых людей. Кровь подвергали центрифугированию в течение 12 мин при 3000 g для получения бедной тромбоцитами плазмы. В плазме крови определяли антикоагулянтную активность по тестам АЧТВ и тромбинового времени (ТВ) на анализаторе АСКа 201-Астра; суммарную (СФА) и фибриндеполимеризационную активность (ФДПА), активность тканевого активатора пламиногена (ТАП) [41].

Статистическая обработка данных проведена согласно методу Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В условиях *in vitro* при разных концентрациях соединения ГАНК от 10^{-5} М до 10^{-1} М выявлена его антикоагулянтная активность, которая повышалась на 20-25 % по сравнению с контролем (добавление к нормальной плазме крови 0.85 %-ного NaCl) и соответствовала антикоагулянтному действию эквивалентной дозы Г. Наряду с этим впервые была установлена ФДПА у соединения ГАНК при его концентрациях в системе от 10^{-3} М до 10^{-1} М (зоны лизиса на нестабилизированном фибрине составляли при этом 45 ± 2.2 мм²). Эта активность практически отсутствовала у составных частей препарата. В условиях *in vitro* нами также было показано, что препараты ГАНК ингибируют активность тромбина на 18-20 %.

В экспериментах на здоровых крысах-самцах с массой тела 180-200 г через 10 мин после внутривенного введения ГАНК (т.е. при поступлении препарата непосредственно в кровоток) установлено достоверное повышение антикоагулянтной активности на 40 %, СФА – на 38 %, ФДПА – на 70 %, ТАП – на 48 % по сравнению с контрольными пробами (0.85 %-ый NaCl). В контрольных образцах после введения эквивалентной дозы Г повышалась антикоагулянтная активность в значительно меньшей степени – на 20 % и активность ТАП – на 37 %, после введения НК и А увеличивалась ФДПА на 24 – 32 % соответственно (табл. 1).

При исследовании крови больных ИБС отмечено угнетение функции противосвертывающей системы, на что указывало повышение свертываемости крови по тестам АЧТВ и ТВ, снижение фибринолиза по тестам СФА, ТАП и низкий уровень ФДПА по

сравнению с теми же показателями в крови здоровых людей (табл. 2).

После 10-суточного приема препарата ГАНК у больных отмечалось не только восстановление до нормального уровня, но даже превышение антикоагулянтной активности на 27-31 % по тестам ТВ и АЧТВ соответственно. Достоверное удлинение при этом показателей ТВ свидетельствовало о способности гепариновых соединений, как и самого гепарина [10], ингибировать активность тромбина. На фоне приема комплексов в крови больных повышались СФА – на 67 %, ФДПА – на 200 % раз и активность ТАП – на 170 %.

Заключение

Установлено, что комплексный препарат гепарин-аспирин-никотиновая кислота, обладая фибриндеполимеризационным и антикоагулянтно-фибринолитическим действием *in vitro* и *in vivo*, способен оказывать защитное действие на организм больных ишемической болезнью сердца от развития тромботических осложнений. В перспективе комплексные соединения гепарина могут быть применены при нарушениях свертываемости крови, сопровождающихся процессами тромбообразования.

Список литературы

1. Бокарев И.Н., Попова Л.В. Атеротромбоз. Современное состояние проблемы и пути ее разрешения // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – 2008. – № 7. – С. 5-30.
2. Кондашевская М.В. Морфофункциональные и психофизиологические эффекты высокомолекулярного гепарина (экспериментальное исследование): Автореф. дис... докт. биол. наук. – М., 2006. – 47 с.
3. Кухарчук В.В., Семенова А.Е. Коррекция гиперлипидемии: особенности терапии статинами на примере пострегистрационного исследования «КОМПЛАЕНС» // Атеросклероз и дислипидемии. – 2015. – № 1. – С. 5–12.
4. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови. – М.: Адвансед Солюшнз, 2012. – 160 с.
5. Оберган Т.Ю. Глипролины и их комплексные соединения с гепарином как физиологические модуляторы функции противосвертывающей системы организма: дис... канд. биол. наук. – М., 2004. – 225 с.
6. Регистр лекарственных средств РЛС. Энциклопедия лекарств – 19-й вып./ Гл. ред. Г.Л. Вышковский. – М.: «РЛС-Медиа», 2010. – 1368 с.
7. Ухачева П., Ежов М.В. Значение никотиновой кислоты в современной кардиологии // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2011. – Т. 7. – № 3. – С. 365-370.
8. Lyapina L.A., Obergan T.Y., Pastorova V.E. Regulatory role of heparin compounds with low molecular ligands of blood in plasma and thrombocyte hemostasis // Biology Bulletin, изд-во М А I K Nauka – Interperiodica (Russian Federation), – 2011. – Т. 38. – № 2. – С. 165-175.
9. Napoli C., Stanley W.C., Ignarro L.J. Nutrition and cardiovascular disease: Putting a pathogenetic framework into focus // Cardiovasc. Res. 2007. V. 73, № 2. P. 253-256.
10. Stief T.W. Inhibition of thrombin in plasma by heparin or arginine // Clin. Appl. Thromb. Hemost. – 2007. – Vol. 13. – № 2. – С. 146–153.