УДК 616.12-008.331.1+615.273

В.З. Нетяженко, Т.Й. Мальчевська, М.С. Валігура
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

Вплив препарату Тівортін® аспартат на тромбоцитарно-плазмовий гемостаз у пацієнтів із гіпертонічною хворобою

Застосування L-аргініну аспартату (препарат Тівортін® аспартат, «Юрія-Фарм», Україна) у складі комплексного лікування пацієнтів із гіпертонічною хворобою II стадії усувало дисбаланс у різних ланках системи гемостазу, справляло позитивний адитивний вплив на протизгортальний потенціал плазми крові, водночас зменшуючи коагуляційний. Зниження рівня фібриногену свідчить не лише про зменшення згортального потенціалу, коагулолабільності крові, а й (на фоні зниження чутливості тромбоцитів до арахідонової кислоти) про опосередкований вплив L-аргініну аспартату на активність запалення як складової серцево-судинного континууму. Позитивний вплив L-аргініну аспартату на агрегаційну активність тромбоцитів може свідчити про покращення ендотеліальної функції, зокрема її гемостазіологічної складової, при підвищенні тромборезистентності.

Ключові слова: *L-аргініну аспартат, Тівортін® аспартат, гіпертонічна хвороба, плазмово-тромбоцитарний гемостаз.*

Вступ

Сьогодні гіпертонічна хвороба (ГХ) залишається чи не найважливішою проблемою кардіології, терапії, сімейної медицини. Захворювання вирізняється значною поширеністю, поліорганністю уражень із боку органів-мішеней та мінливістю лікувальних стратегій. Тривалий час дискусійними вважали питання вибору антигіпертензивного препарату, стартових доз, тактики щодо застосування комбінованої антигіпертензивної терапії, фіксованих форм препаратів, недоцільності проведення подвійної нейрогуморальної блокади з одночасним застосуванням інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту і блокаторів рецепторів ангіотензину II (Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної та екстреної (спеціалізованої) медичної допомоги «Артеріальна гіпертензія», 2012; Mancia G. et al., 2013). Дискутабельними залишалися питання цільових рівнів артеріального тиску (АТ), зокрема у хворих групи високого і дуже високого ризику, із цукровим діабетом, протеїнурією. Сьогодні ж вимоги щодо досягнення цільових рівнів АТ у цієї категорії пацієнтів стали менш жорсткими. Останнім часом фахівці погодилися з тим, що у пацієнтів, які перенесли інфаркт міокарда і церебральний інсульт, навіть за умов нормотензії, слід застосовувати два антигіпертензивні препарати для мінімізації кардіоваскулярного ризику та кардіопротекції. В останніх рекомендаціях Європейського товариства кардіологів (Europeaп Society of Cardiology) досягнуто певного консенсусу щодо цільових рівнів АТ у людей похилого віку, доведено, що його нижчі рівні асоційовані з підвищеним ризиком розвитку деменції, виникнення явища гіпоперфузії життєво важливих органів. Найоптимальнішим вважають цільовий рівень систолічного АТ 140–150 мм рт. ст. (Mancia G. et al., 2013).

Тактично важливим аспектом антигіпертензивного лікування є неприпустимість і недоцільність зниження рівня систолічного АТ <110–115 мм рт. ст., діастолічного — <60–70 мм рт. ст. для уникнення небажаних ефектів і непрогнозованих ускладнень. Неабияка увага приділяється резистентній артеріальній гіпертензії, при лікуванні якої застосовують щонайменше три препарати, один із яких — діуретик, при цьому цільових рівнів АТ у таких випадках вдається досягти не завжди (Mancia G. et al., 2013). Донедавна дискутабельним залишалося питання щодо застосування ацетилсаліцилової кислоти для первинної та вторинної профілактики серцево-судинних ускладнень. Її застосування при лікуванні пацієнтів із ГХ є спірним і дотепер: таке призначення рекомендоване за умов досягнутої нормотензії та у пацієнтів групи високого ризику.

ГХ зайняла чільне місце в серцево-судинному континуумі. Саме на її тлі існує потенційна небезпека грізних ускладнень: інфаркту міокарда, церебрального інсульту, серцевої недостатності, які підвищують смертність та інвалідизацію пацієнтів. Це потребує подальшої оптимізації лікування хворих на ГХ і пошуку лікувальної стратегії для зменшення кількості фатальних ускладнень. Останніми роками у численних дослідженнях доведено домінуючу роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі розвитку більшості захворювань серцево-судинної системи і надзвичайно важливе місце її в серцево-судинному континуумі. Ендотеліальна дисфункція, наче підводна частина айсберга, виступає ініціатором розвитку більшості серцево-судинних захворювань, зокрема ГХ. Під впливом гемодинамічного навантаження, гіперглікемії, дисліпідемії, тютюнопаління зруйнований ендотелій стає проникливим для ліпопротеїдів, макрофагів, що врешті-решт ініціює розвиток раннього атеротромбозу та зумовлює швидкість його прогресування (Гуревич М.А., Стуров Н.В., 2006; Головченко Ю.И., Трещинская М.А., 2008; Ельский В.Н. и соавт., 2008; Saha D. et al., 2015). Ендотелій вважають паракринним імунокомпетентним органом, який відповідає за синтез більшості біологічно активних речовин. На рівні ендотелію здійснюється синтез прокоагулянтних, антикоагулянтних, прозапальних чинників, факторів клітинної проліферації, що утримує баланс цієї динамічної системи у рівновазі. Ендотелій відповідає за стан судинного тонусу, регуляцію АТ, процеси вазодилатації, фільтраційної функції нирок, скоротної здатності серця і метаболічного забезпечення головного мозку (Baylis C., 2008). Окрім цього, ендотелій «визначає», бути чи не бути процесам тромбоутворення. Швидше досягнення цільових рівнів АТ у пацієнта з артеріальною гіпертензією залежить від можливості усунення у нього ендотеліальної дисфункції, тобто останнє деякою мірою є мірилом ефективності антигіпертензивного лікування (Гуревич М.А., Стуров Н.В., 2006; Bryan N.S. et al., 2009; Mancia G. et al., 2013).

Традиційними методами оцінки ендотеліальної дисфункції вважають ендотелійзалежну (із застосуванням ацетилхоліну, аденозину) та ендотелійнезалежну вазодилатаційні (із застосуванням ацетилхоліну, нітрогліцерину) проби, визначення швидкості пульсової хвилі, оцінку жорсткості судин. Метаболіти оксиду азоту (NO) є нестійкими, що ускладнює лабораторну оцінку дисфункції ендотелію. Проте найбільш об'єктивний метод — лабораторне визначення асиметричного диметиларгініну як проміжного продукту біохімічної трансформації L-аргініну — джерела NO (Слободський В.А., 2009).

Вважають, що L-аргінін під впливом ендотеліальної NO-синтази перетворюється на NO і цитрулін. NO як напіврадикал і гідрофобний газ є нестійкою сполукою із тривалістю періоду напівжиття 6 с. Постійне його відтворення, власне, і забезпечує ту багатогранність процесів, за які відповідає ендотелій: регуляцію процесів адгезії, агрегації тромбоцитів, проліфера-

ції та, за умов розвитку його дисфункції — запалення. Тромбоцити ареактивні стосовно ендотелію, за відсутності будь-якого пошкодження ендотеліоцитам притаманні тромборезистентні властивості (нездатність інтактного ендотелію активувати тромбоцити) (Ferroni P. et al., 2004; Minuz P. et al., 2004). Так звана нетромбогенність ендотелію, перш за все, пов'язана із:

- від'ємним зарядом ендотелію і тромбоцитів;
- наявністю аденозиндифосфат (АДФ)-ази, яка розщеплює АДФ — потужний індуктор агрегації тромбоцитів;
- здатністю до синтезу речовин, які пригнічують функціональну активність тромбоцитів (простацикліну, NO);
- здатністю зв'язувати та інактивувати тромбін тромбомодуліном;
- наявністю інгібіторів протеаз системи згортання крові (антитромбіну III, α_2-макроглобуліну);
- здатністю до синтезу і вивільнення у кровотік тканинного активатора плазміногену.

Тобто препарати, які покращують NO-синтезуючу здатність ендотелію, виявляють антиатерогенний, антипроліферативний, антитромбоцитарний і протизапальний ефекти, не лише стримують процеси патологічного ремоделювання, а й підвищують тромборезистентність судинної стінки (Wu K.K., Thiagarajan P., 1996; Мовчан Е.А., 2008; Bryan N.S. et al., 2009).

Мета роботи — аналіз впливу L-аргініну аспартату (препарату Тівортін® аспартат, «Юрія-Фарм», Україна) на показники тромбоцитарного і плазмового гемостазу як гемостазіологічної складової, яка відображає тяжкість ендотеліальної дисфункції у пацієнтів із ГХ II стадії із факторами ризику.

Об'єкт і методи дослідження

У ході дослідження обстежено 30 хворих (23 жінки, середній вік становив 52±5,2 року) з підтвердженою ГХ. Усі пацієнти отримували стандартну антигіпертензивну терапію: 17 (56,7%) — інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, 7 (23,3%) — блокатори рецепторів ангіотензину II та 6 (20%) — блокатори β-адренорецепторів. Серед них у 8 (26,7%) діагностовано ГХ II стадії 1-го ступеня та у 22 (73,3%) — 2-го ступеня. У 8 (26,7%) пацієнтів індекс маси тіла — у межах норми, 17 (56,7%) — мали надмірну масу тіла, у 5 (16,7%) відзначали ожиріння, цукрового діабету не виявлено, проте у 18 (60%) пацієнтів встановлено підвищений рівень глюкози у плазмі крові (в середньому — 6,4±0,9 ммоль/л), 7 (23,3%) пацієнтів були курцями. Критеріями виключення з дослідження стали перенесені:

- інфаркт міокарда;
- гостре порушення мозкового кровообігу;
- нестабільна стенокардія;
- хронічна серцева недостатність III–IV функціональних класів за класифікацією NYHA;
- наявність супутніх некомпенсованих захворювань або гострих станів.

Визначення гемостатичних параметрів проводили відразу при госпіталізації пацієнта до стаціонару та після проведення курсу лікування препаратом Тівортін® аспартат *per os* по 5 мл розчину 2 рази на добу протягом 10–14 днів на фоні антигіпертензивної терапії.

Для аналізу гемостатичних параметрів із ліктьової вени пацієнта забирали 9 мл крові, яку поміщали у пробірку з 1 мл цитрату натрію. Збагачену тромбоцитами плазму крові отримували при центрифугуванні крові протягом 3 хв зі швидкістю 1000 об./хв, бідну на тромбоцити плазму крові — протягом 20 хв зі швидкості 3000 об./хв, що є загальноприйнятою методикою для коагулогічних досліджень. Дослідження агрегації тромбоцитів проводили на агрегометрі НПФ «Біола» (Росія). У ролі індукторів агрегації використовували АДФ, арахідонову кислоту (АК), колаген та 0,03 мл адреналіну готового розчину. Оцінювали максимальне значення світлопропускання плазми крові за методом G. Born (%) і середній розмір агрегатів.

В усіх пацієнтів визначали показники плазмового гемостазу: рівні фібриногену, антитромбіну III, протеїну С, активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ), часу XIIa-залежного фібринолізу. Показники плазмового гемостазу визначали на коагулометрі «Amellung KC 4A» («Eko-Med-Poll», Австрія) з використанням реактивів «Ренам» та «Технологія-стандарт» (Росія). Дослідження проводили на бідній на тромбоцити плазмі крові. Визначення рівня фібриногену проводили за методом Клауса. При дослідженні активності антитромбіну III у плазмі крові видаляли фібриноген за допомогою теплової обробки, після чого вносили стандартну кількість тромбіну, потім суміш інкубували і визначали в ній залишкову активність тромбіну. Активність тромбіну визначали за часом згортання стандартного розчину фібриногену. Визначення рівня протеїну С проводили шляхом активації ендогенного протеїну С під дією фракції отрути Agkistrodon contortrix, яка подовжує час згортання плазми крові в тесті АЧТЧ.

Оцінку часу XIIa-залежного фібринолізу проводили з метою визначення фібринолітичної активності плазми крові. Метод полягав у вимірюванні часу повного лізису еуглобулінової фракції, отриманої з плазми крові при осадженні в кислому середовищі, яка містила фактори згортання крові та фібринолізу. Еуглобулінову фракцію виділяли із плазми крові, що містила плазміноген, фібриноген, фактор згортання крові й не містила інгібіторів фібринолізу. Після додавання до цієї фракції хлористого кальцію утворювався згусток фібрину, який у подальшому лізувався плазміном. Реакція активувалася фактором XIIa, фібринолітичну активність плазми крові оцінювали від моменту утворення згустка до його розчинення.

АЧТЧ визначали як час згортання декальцинованої плазми крові після додавання до неї каолін-кефалін-кальцієвої суміші, яка активує фактори XII, V та VIII гемокоагуляції. За допомогою АЧТЧ оцінювали здатність формування фібрину шляхом послідовної взаємодії всіх факторів згортання крові: XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I.

Задля моделювання реальних умов гемостазу у пацієнтів із ГХ *in vitro* використовували комбінацію індукторів у мінімально необхідних концентраціях ймовірно наявних за реальних умов пошкодження ендотелію судин через оксидативний стрес, гемодинамічний стрес, руйнівний вплив гіперглікемії, гіперхолестеринемії як факторів серцево-судинного ризику.

Дослідження агрегаційної здатності тромбоцитів із декількома індукторами моделює події, які відбуваються у кровотоці в ділянці пошкодженого ендотелію та ініціації процесів гемостазу, оскільки за реальних умов тромбоцити активуються декількома агоністами. Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою стандартних методів із застосуванням прикладних програм «Statistica SPSS 10.0».

Результати та їх обговорення

Встановлено, що у пацієнтів із ГХ II стадії спостерігається активація тромбоцитарного гемостазу внаслідок підвищення ступеня та швидкості агрегації тромбоцитів: як спонтанної, так і індукованої (таблиця).

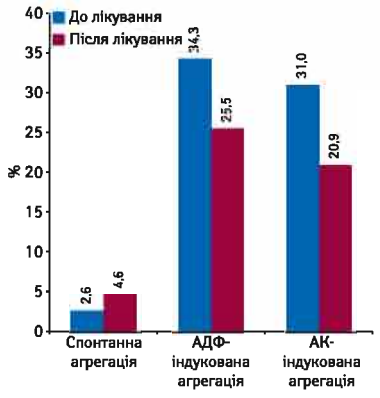
Оцінюючи тромбоцитарний гемостаз у пацієнтів із ГХ встановлено односпрямовані зміни з боку індукованої агрегації тромбоцитів із АК і АДФ у динаміці обстеження. При дослідженні агрегації тромбоцитів виявлено статистично значуще сповільнення АК-індукованої агрегації тромбоцитів на 32,6% (p=0,05) після 14-денного курсу лікування препаратом

Таблиця **Динаміка показників тромбоцитарно-плазмового гемостазу у пацієнтів із ГХ при лікуванні Тівортін® аспартатом**

Показник	До лікування (n=30)	Після лікування (n=30)	p
Спонтанна агрегація тромбоцитів, %	2,64±2,91	4,59±7,34	0,1412
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів, %	34,34±21,64	25,45±18,57	0,1095
АК-індукована агрегація тромбоцитів, %	31,04±23,63	20,92±21,89*	0,049
Колаген-індукована агрегація тромбоцитів, %	15,77±19,11	6,29±15,74*	0,03
Адреналін-індукована агрегація тромбоцитів, %	27,41±19,97	14,52±11,21	0,065
Фібриноген, г/л	3,98±0,84	3,51±1,14***	0,0005
Антитромбін III, %	105±18,14	128,17±28,35	0,065
Протеїн С, ум. од.	0,63±0,16	0,76±0,25**	0,0065
Час XIIa-залежного фібринолізу, хв	14,21±12,8	16,29±12,72	0,155
АЧТЧ, с	24,62±9,94	22,66±9,09	0,457

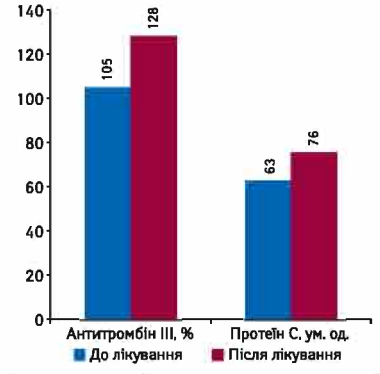
*, **, ***p – достовірність різниці показників до та після лікування (p<0,05; p<0,01; p<0,001).

Рис. 1



Вплив застосування препарату Тівортін® аспартат на показники тромбоцитарного гемостазу

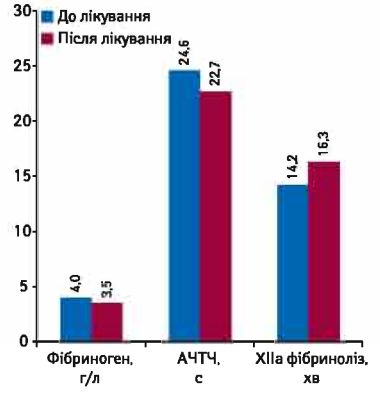
Рис. 2



Вплив застосування препарату Тівортін® аспартат на показники плазмового гемостазу (антитромбін III, протеїн С)

Протеїн С: для демонстративності отримані дані • 100

Рис. 3



Вплив застосування препарату Тівортін® аспартат на показники фібринолітичної системи крові

Тівортін® аспартат порівняно з вихідним рівнем. До лікування АК-індукована агрегація тромбоцитів становила 31,04±23,63%, а через 14 днів — 20,92±21,89%. Подібну тенденцію відзначали і при АДФ-індукованій агрегації тромбоцитів: зниження АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів на 25,9% на фоні лікування препаратом Тівортін® аспартат. До лікування АДФ-індукована агрегація тромбоцитів становила 34,34±21,64%, а після лікування препаратом Тівортін® аспартат зменшилася до 25,45±18,57%, хоча ці зміни і не були достовірними (рис. 1). При аналізі агрегації тромбоцитів, зініційованому різними індукторами, які моделюють *in vitro* процеси тромбоутворення, встановлено найбільше її пригнічення при використанні індуктора колагену. Зниження колаген-індукованої агрегації тромбоцитів на 60,1% при лікуванні препаратом Тівортін® аспартат (до лікування — 15,77±19,11%, після лікування — 6,29±15,74%) свідчить про мінімізацію, стирання пошкоджуючого впливу на ендотеліальну стінку.

При оцінці плазмового гемостазу відзначена позитивна динаміка рівня фібриногену, як першого фактора згортання крові і гострофазового білка. На фоні лікування препаратом Тівортін® аспартат його рівень достовірно знижувався на 11,8% (p=0,0005) — з 3,98±0,84 до 3,51±1,14 г/л, що свідчить про зменшення вираженості коагуляційних властивостей крові. Аналізуючи рівень природних антикоагулянтів антитромбіну III та протеїну С, виявлено зростання їх активності на фоні лікування (рис. 2), так само як і активності природних антикоагулянтів. Рівень антитромбіну III виріс на 22%: з 105±18,14 до 128,17±28,35% в той час, як активність протеїну С підвищилася на 20,6% (p=0,0065). З боку фібринолітичної системи крові достовірних змін не виявлено (рис. 3).

На фоні застосування антигіпертензивних препаратів і препарату Тівортін® аспартат у всіх пацієнтів із ГХ вдалося досягти цільових рівнів АТ, а у 20% пацієнтів дози антигіпертензивних препаратів знижено (здебільшого це стосувалося хворих на АГ II стадії 1-го ступеня).

Висновки

1. На фоні лікування L-аргініном аспартатом (препарат Тівортін® аспартат, «Юрія-Фарм», Україна) встановлено статистично значуще зниження агрегації АК-індукованої агрегації тромбоцитів, що робить його ефект подібним до такого ацетилсаліцилової кислоти. Із врахуванням ролі АК в каскаді запалення можна припустити, що препарат зменшує чутливість тромбоцитів до медіаторів запалення. Результати оцінки показників плазмового гемостазу свідчили про достовірне зниження рівня фібриногену, що вказує на зменшення згортального потенціалу, коагулолабільності крові.

2. Таке зниження рівня фібриногену, як не лише фактора згортання крові, а й гострофазового білка, в поєднанні зі зменшенням чутливості тромбоцитів до АК може свідчити про опосередкований вплив L-аргініну аспартату (Тівортін® аспартат) на активність запалення як складової серцево-судинного континууму.

3. Застосування L-аргініну аспартату протягом 14 днів позитивно вплинуло на протизгортальну систему крові, що виражалося у підвищенні активності природного антикоагулянта протеїну С, що важливо не лише у разі атеротромбозу, а й при венозній тромбоемболії.

4. Позитивний вплив L-аргініну аспартату (Тівортін® аспартат) на агрегаційну активність тромбоцитів у пацієнтів із ГХ може свідчити про покращення ендотеліальної функції, зокрема її гемостазіологічної складової, підвищуючи тромборезистентність ендотелію. Це дає підстави стверджувати, що, окрім притаманної вазодилатуючої дії, препарат виявляє плеотропні ефекти.

Список використаної літератури

Головченко Ю.И., Трещинская М.А. (2008) Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. Consilium medicum Ukraina, 11: 38–40.

Гуревич М.А., Стуров Н.В. (2006) Дефицит оксида азота и поддержание сосудистого гомеостаза: роль мононитратов и проблемы цитопротекции. Трудный пациент, 3: 23–29.

Ельский В.Н., Ватутин Н.Т., Калинкина Н.В., Салахова А.М. (2008) Роль дисфункции эндотелия в генезе сердечно-сосудистых заболеваний. Журн. АМН України, 14(1): 51–62.

Мовчан Е.А. (2008) Дисфункция эндотелия и тромбоцитов при хронической болезни почек: новый взгляд на старую проблему нарушений в системе гемостаза у больных гломерулонефритом. Бюллетень сибирской медицины (Приложение 2): 88–96.

Слободський В.А. (2009) Досвід застосування препарату Тівортін® аспартат при лікуванні пацієнтів зі стабільною стенокардією напруження. Укр. мед. часопис, 5(73): 40–43 (http://www.umj.com.ua/article/2865; http://www.umj.com.ua/archive/73/pdf/1511_ukr.pdf).

Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної та екстреної (спеціалізованої) медичної допомоги «Артеріальна гіпертензія» (2012) (http://www.dec.gov.ua/mtd/reestr.html).

Baylis C. (2008) Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. Am. J. Physiol. Renal. Physiol., 294(1): F1–F9.

Bryan N.S., Bian K., Murad F. (2009) Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. Frontiers in Bioscience, 14: 1–18.

Ferroni P., Basili S., Falco A., Davi G. (2004) Oxidant stress and platelet activation in hypercholesterolemia. Antioxid. Redox. Signal., 6(4): 747–756.

Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K. et al.; Task Force Members (2013) 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). J. Hypertens., 31(7): 1281–1357.

Minuz P., Patrignani P., Gaino S. et al. (2004) Determinants of platelet activation in human essential hypertension. Hypertension, 43(1): 64–70.

Saha D., S.S., Sergeeva E.G. et al. (2015) Tissue factor and atherothrombosis. Curr. Pharm. Des., 21(9): 1152–1157.

Wu K.K., Thiagarajan P. (1996) Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. Annu. Rev. Med., 47: 315–331.

Адреса для листування:
Нетяженко Василь Захарович
01004, Київ, бульв. Тараса Шевченка, 13
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,
кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб № 1

Одержано 23.05.2016