

К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКО-МОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ (обзор литературы)

Г.И. БОРЩЕВСКИЙ, М.И. БОРЩЕВСКАЯ

Департамент биотехнологии ОАО «Фармак», Киев

Ключевые слова: гепарин, тромбоцит, противотромбическая активность, анти-Ха

В статье рассматриваются вопросы применения гепаринов с различными молекулярными массами, зависимости биофармацевтической эффективности от способа получения и состава препаратов. Обсуждается влияние состава гепаринов и ряда примесей на проявление побочных действий препаратов, поднят вопрос о необходимости стандартизации субстанций и готовых лекарственных форм по молекулярным массам и присутствующим примесям. Используемые сегодня низкомолекулярные гепарины должны рассматриваться как оригинальные, а не генерические препараты, отличающиеся по способам получения, составу и клиническому действию. Это требует проведения соответствующих исследований по изучению физико-химических, биофармацевтических и клинических свойств низкомолекулярных гепаринов при их освоении и внедрении.

ВСТУПЛЕНИЕ

Препараты на основе гепаринов (Г) сегодня хорошо известны. Трудно представить профилактику и лечение патологических поражений сосудов и тканей без этой группы биологически активных соединений. Известно, что Г применяют для лечения большого числа заболеваний: тромбозы и тромбоэмболии, ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда, гломерулонефрит и другие. Сегодня в клинической практике используются нефракционированные (НФГ) и низкомолекулярные (НМГ) Г [18, 27, 28].

Известным осложнением НФГ является гепарининдуцированная тромбоцитопения. Г также может быть инактивирован тромбоцитарным фактором 4, белками плазмы крови или путем связывания его макрофагами. Вследствие этого для повышения эффективности антикоагулянтного действия НФГ и корректировки дозы препарата необходимо прибегать к непрерывной внутривенной инфузии с систематическим контролем активированного частично тромбопластинного времени (АЧТВ).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Наличие побочного действия у НФГ привело к созданию во второй половине 80-х годов

М. И. Борщевская — руководитель департамента биотехнологии ОАО «Фармак»; проф. кафедры биотехнологии микробного синтеза Национального университета пищевых технологий.

Г. И. Борщевский — сотрудник департамента биотехнологии ОАО «Фармак»; асп. ГП «ГНЦЛС», г. Харьков.

НМГ. НМГ получают различными химическими и ферментативными способами деполимеризации [2, 3, 16, 20] НФГ, полученного из слизистой кишечника свиньи. При этом образуются фрагменты от 4,0 до 6,5 кДа. НМГ обладают большей активностью в ингибировании Ха-фактора и меньше влияют на тромбин (II фактор). Отношение анти-Ха к анти-IIa (антитромбин) у различных НМГ варьирует от 2:1 до 4:1. В отличие от НФГ, у которого соотношение анти-Ха к активности АЧТВ составляет 1:1, ингибирование Ха-фактора свертывания НМГ значительно более выражено, чем его влияние на АЧТВ. Это оказывает более благоприятное влияние на эффективность и переносимость НМГ и, соответственно, на ожидаемую противотромбическую активность и риск развития кровотечения [9, 11, 36]. С химической и фармакологической точек зрения НМГ являются гетерогенной смесью полисахаридов, которые также содержат биологически неактивные компоненты. По мнению ряда исследователей, способ получения НМГ — ферментативная деполимеризация, химическая дегградация или фракционирование — не влияет на их активность [36]. Относительное содержание высоко- (более 7,5 кДа) и низко- (менее 2,5 кДа) молекулярных фрагментов полисахаридных цепочек определяет фармакодинамический и фармакокинетический профиль отдельных препаратов в клинических исследованиях. Образуются фрагменты разной длины:

а) молекулы, которые содержат около 16 моносакхаридов и могут ингибировать не только фактор Ха, но и тромбин (IIa);

б) молекулы из 8–18 моносахаридов (молекулярная масса (м. м.) меньше 5,4 кДа), которые ингибируют только фактор Ха;

в) молекулы, которые имеют меньше, чем 8 моносахаридов и не проявляют ингибирующего эффекта;

г) по меньшей мере 24 сахаридных остатка должны быть в молекуле Г (что соответствует м. м. около 7,2 кДа), чтобы он мог ускорять инактивацию тромбина антитромбином III.

Сегодня существует около 20 препаратов НМГ со средней м. м. около 5 кДа. Главное преимущество НМГ следует из их фармакокинетических свойств: в 2–4 раза большее время полувыведения из организма, заметно лучшая биодоступность при подкожном введении и более стабильная дозовая реакция. Меньший токсический эффект связан с вызываемой НФГ тромбоцитопенией, что, в свою очередь, обусловлено взаимодействием НМГ с тромбоцитами [33]. Кроме того, на лабораторных животных продемонстрирована возможность проникновения Г с м. м. 1,9–4,6 кДа через гематоэнцефалический барьер [31].

Показаниями к применению НМГ является:

- профилактика тромбоэмболических осложнений, в особенности тех, которые связаны с общей хирургией или ортопедией;
- у нехирургических больных с высоким тромбоэмболическим риском (острая дыхательная недостаточность и/или респираторная инфекция, и/или острая сердечная недостаточность);
- лечение тромбоэмболических осложнений;
- профилактика свертывания крови в ходе гемодиализа;
- острый инфаркт миокарда, острые коронарные нарушения.

В таблице 1 приведена характеристика НМГ.

Метаболизм НМГ происходит путем десульфатации и/или деполимеризации с образованием разновидностей Г низкой м. м., обладающих существенно более низкой биологической активностью. Рассмотрим ряд НМГ, хорошо зарекомендовавших себя в клинической практике.

Фраксипарин (надропарин кальция) (ФП) — синтетический гликозаминогликан — первый из НМГ, изученный в клинике. Его получают из слизистой оболочки кишок свиней путем расщепления азотной кислотой, редукцией концевых групп боргидридом натрия, очисткой и замещением натрия на кальций. ФП имеет 70 % регулярных и 30 % нерегулярных дисахаридов. В основном, смеси семи дисахаридов 80 % цепочек этого НМГ имеют м. м. в пределах 2,0–7,0 кДа, которые состоят из 4–12 дисахаридных единиц, а около 50 % из 4,0–5,0 кДа, которые состоят из 12–14–16 дисахаридных единиц. Около 25 % молекул ФП имеют специфический участок связывания с антитромбином III. Полисахаридные цепочки ФП разделяются на высоко- и низкоаффинные фракции. Высокоаффинные фракции отвечают за анти-Ха и анти-IIa активность, а низкоаффинные компоненты препарата активностью не обладают [32].

Биодоступность ФП при подкожном введении достигает, по данным ряда авторов, от 80 до 98 %, в то время как у НФГ биодоступность лишь 24 %. Уже после однократного внутривенного введения ФП наступает длительный анти-Ха эффект; АЧТВ и тромбиновое время увеличиваются уже на 5 мин., а после 24 часов нормализуются. После подкожных инъекций анти-Ха эффект обнаруживается только через 3–4 часа и продолжается в течение 18 часов [1, 7, 13]. Преимущества ФП по сравнению с НФГ и выгодные отличия от других НМГ сегодня признаны многими специалистами. Установлено, что кальциевые соли вызывают достоверно меньше местных осложнений, чем натриевые соли НМГ.

Фрагмин (дальтепарин натрия, ФР) представляет собой НМГ, выделенный в процессе контролируемой деполимеризации с помощью серной кислоты Г натрия из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи и подвергнутый дополнительной очистке при помощи ионно-обменной хроматографии. Лекарственный препарат состоит из сульфатированных полисахаридных цепочек, имеющих среднюю м. м. 5,0 кДа (от 3,0 до 6,0 кДа). Низкая м. м. молекул ФР способствует селективному ингибированию фак-

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ

Наименование НМГ, INN	М. м., Да	Соотношение анти-Ха/анти-IIa	Период T _{1/2} в плазме, мин	Наименование препарата
Дальтепарин натрия Kabi, Швеция	5000–6000	2,0–4,0	119–139	Фрагмин Pfizer Inc.
Надропарин кальция Sanofi	4300–4500	3,2–3,6	132–162	Фраксипарин GlaxoSmithKline
Эноксапарин натрия Rhone-Poulenc, Франция	4200–4500	3,7–3,8	129–180	Клексан Sanofi Aventis

торов Ха, XIIa и калликреина и более низкую активность к ингибированию факторов IIa, IXa, XIIa. Соотношение анти-Ха к анти-IIa ФР достигает, по данным ряда авторов, от 2,2 до 4,0 [30]. Биодоступность препарата достаточно высока — $(87 \pm 6)\%$ и по данным она в 9 раз превышает активность НФГ. ФР метаболизируется преимущественно в ретикулоэндотелиальной системе печени, селезенки и почек путем N- и O-десульфатирования и в незначительной степени выделяется с мочой в неизменном состоянии. АЧТВ после подкожного введения 2500 МЕ анти-Ха ФР удлинняется на 3 секунды (при 5000 МЕ анти-Ха — на 6 секунд) и возвращается к первоначальному уровню, соответственно, через 12 и 24 часа. Период полувыведения препарата после подкожного введения колеблется от 160 ± 50 до 228 ± 40 мин. [10]. ФР связывается с антиромбином III и усиливает его ингибирующее влияние преимущественно на активность фактора свертывания Ха. В меньшей степени ФР уменьшает активность фактора IIa (тромбин), т.к. полисахаридные цепочки необходимой для ингибирования тромбина длины (содержащие не менее 18 олигосахаридов) обнаруживаются лишь в 25–30 % молекул НМГ.

Клексан (эноксапарин натрия, ЭПН) представляет собой НМГ со средней м.м. — 4,5 кДа. Препарат с высокой активностью анти-Ха (100 МЕ/мл) и низкой ингибирующей активностью в отношении фактора IIa (тромбина) (28 МЕ/мл), соотношение 3:1. Фракционный состав ЭПН: фрагменты менее 2,0 кДа — менее 20%; от 2,0 до 8,0 кДа — более 68%; более 8,0 кДа — менее 18%. ЭПН получают щелочным гидролизом бензилового эфира Г, выделенного из слизистой оболочки тонкого кишечника свиньи. Его структура характеризуется невосстанавливающимися фрагментами 2-O-сульфо-4-енпиразиносуроновою кислоты и восстанавливающимся фрагментом 2-N, 6-O-дисульфо-O-глюко-пиранозида. Структура ЭПН содержит 20% (в пределах от 15 до 25%) 1,6 ангидропроизводного в восстанавливаемомся фрагменте полисахаридной цепи. ЭПН содержит много коротких цепей (31%) с м.м. 2,5 кДа, которые обладают высокой анти-Ха активностью, но практически не могут инактивировать тромбин, в отличие от Г, который в одинаковой степени инактивирует тромбин и фактор Ха. Необходимо отметить, что препараты ЭПН, изготовленные различными производителями, отличаются по своим характеристикам.

После подкожного введения препарат полностью адсорбируется, достигая максимального уровня в плазме крови уже в течение первого часа, а максимальная активность наблюдается

на 3 час после введения. Анти-Ха активность продолжается в течение 24 часов. Период полувыведения Клексана продолжается в среднем 4 часа. ЭПН не влияет на АЧТВ и протромбиновое время, что позволяет не проводить мониторинг этих показателей лабораторными методами.

Инногеп (тинзапарин натрия, ТПН) — НМГ, получаемый ферментологией стандартного НФГ при помощи гепариназы, выделенной из *Flavobacterium heparinum*. Средняя м.м. препарата $(4,5 \pm 1,5)$ кДа. При сравнении активности с первым международным стандартом анти-Ха активность тинзапарина составляет 75 МЕ/мг, а активность анти-IIa — значительно меньше и составляет 50 МЕ/мг. Соотношение этих активностей 1,5–2,5:1. Пик анти-Ха и анти-IIa активности после подкожного введения Инногепа обнаруживается на 4–6 часу и несомненно зависит от дозы введенного препарата. Общая биодоступность, определяемая этой активностью, достигает, соответственно, 90% и 67%. При введении препарата в течение нескольких дней пиковые значения этих активностей прогрессивно нарастают, но аккумуляция не наблюдается. Период полувыведения анти-Ха активности ТПН после подкожного введения составляет 82 мин., а для анти-IIa — 71 мин. [2]. Эффект анти-Ха активности ТПН в три раза (в дозе 2500 МЕ Анти-Ха), в шесть раз (в дозе 5000 МЕ Анти-Ха) и в 11 раз (в дозе 10000 МЕ Анти-Ха) выше, чем при использовании 5000 МЕ НФГ. При гемодиализе Инногеп вводится болюсно в артериальную линию диализатора перед сеансом в дозе 4250 МЕ, что позволяет эффективно предупредить образование сгустков во время процедуры.

Одним из последних препаратов НМГ, появившимся на фармацевтический рынок, является Бемипарин (Цибор-Ц), относящийся к НМГ второго поколения [38]. Препарат используется для профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений у пациентов, имеющих средний, высокий и очень высокий риск тромбоэмболических осложнений. С этим препаратом проведено несколько клинических исследований в 2000–2004 гг. в Испании, США, Франции. Изучено количество случаев тромбоза глубоких вен и тромбоза легочной артерии, а также количество геморрагических осложнений у хирургических, онкологических, ортопедических больных на фоне тромбопрофилактики. Ц сравнили с ЭПН и НФГ. Проведенные исследования подтвердили эффективность Ц: количество случаев тромбоза глубоких вен и тромбоза легочной артерии снизилось с 5,4% (ЭПН) до 1,8% (Ц). По-видимому, это связано с рядом факторов: Бемипарин имеет самую низкую м.м.

из всех НМГ — 3,6 кДа, при м. м. известных НМГ (4,5–6,0 кДа); самое значительное преимущество Ц — это соотношение Ха/Па (антитромботическая активность/антикоагуляционная активность), составляющее у данного препарата 8:1, что значительно отличает Ц от других НМГ (табл. 1). Кроме того, период полужизни препарата в плазме крови составляет около 300 мин., что делает его применение один раз в день более предпочтительным по сравнению с другими НМГ.

Необходимо остановиться еще на одной группе Г. За последнее время предложены Г со средней молекулярной (СМГ) массой около 10,5 кДа [19] с узким диапазоном м. м. (9,5–11,5 кДа). Препарат обладает практически одинаковой анти-Ха (174,9 МЕ/мг) и анти-Па (170 МЕ/мг) активностью и объединяет высокую антитромбиновую активность, характерную для НФГ, и высокую биодоступность, свойственную для НМГ. Предложен СМГ [4], полученный путем контролируемой деполимеризации НФГ и последующего выделения методами молекулярной фильтрации. Препарат предназначен для получения лекарственного средства для профилактики и терапии тромботических процессов, в частности, для торможения свертывания крови при экстракорпоральном кровообращении. Предложенный препарат отличает отсутствие по сравнению с известными Г кровоточивости при наибольшей активности против фактора Па, что достоверно повышает его терапевтический индекс. Сравнение препарата проводили с НФГ (*Liquemin*) и НМГ (ЭПН). Гель-проникающей хроматографией (ГПХ) изучены их м. м. и молекулярно-массовое распределение. Было установлено, что кривые элюирования, полученные при ГПХ для НФГ, имеют среднюю м. м., равную 13,0 кДа, и одновременно с этим характеризуются исключительно широким молекулярно-массовым распределением. НМГ имеют среднюю м. м., равную 4,5 кДа, и значительно более узкое молекулярно-массовое распределение. Предложенный СМГ имеет среднюю м. м., равную 10,5 кДа, и наиболее узкое среди всех

трех различных Г молекулярно-массовое распределение. При этом автор придает особое значение узкому молекулярно-массовому распределению, поскольку именно подобным молекулярно-массовым распределением обусловлено наличие у СМГ уникального спектра фармакологического действия — ГСМ — при его сопоставлении с обоими сравниваемыми действующими веществами (НФГ и НМГ) обладает более высокой активностью как против фактора Ха, так и против фактора Па. При изучении СМГ в клинике обнаружено, что СМГ проявляет наибольшую активность в опыте по определению АЧТВ и в опыте по определению активности против фактора Па, причем предлагаемый Г именно по показателям его активности против фактора Па значительно отличается от двух других Г. При анализе активности против фактора Ха СМГ занимает примерно среднее положение между ЭПН и *Liquemin*. Хотя активность ЭПН против фактора Ха более чем в два раза превышает активность СМГ, тем не менее антитромбиновая активность ЭПН составляет приблизительно лишь 66 % от активности СМГ (табл. 2). Авторы пришли к выводу, что ЭПН действительно обладает более высокой по сравнению с СМГ биодоступностью, однако его ингибирующее тромбин действие, которым в первую очередь определяется противосвертывающая эффективность, проявляется существенно в меньшей степени, чем у предлагаемого СМГ. Результаты эксперимента на кроликах однозначно свидетельствовали о наличии у СМГ более высокого терапевтического действия касательно предупреждения и лечения тромботических процессов по сравнению с НМГ. Помимо этого было установлено, что введение СМГ сопровождается меньшим по сравнению с ЭПН риском кровотечений. С учетом экспериментально полученных результатов СМГ предпочтительно применять и для терапии острого инфаркта миокарда и нестабильной стенокардии, а также для ингибирования свертывания крови при экстракорпоральном кровообращении [5, 42]. Одно из основных преимуществ НМГ по сравнению

Таблица 2

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРЕХ ВИДОВ ГЕПАРИНОВ

Характеристика	НФГ	СМГ	НМГ
Молекулярная масса, Да	3000–30000	10000–11500	2000–8000
Средняя молекулярная масса, Да	13000	10500	5000
Активность против фактора Ха/фактора Па	1,00	1,03	3,8
Активность против фактора Ха	219	439	1028
Активность против фактора Па	308	544	358
Активность в опыте по определению АЧТВ	104	154	126
Биологическая доступность, % (подкожно)	10–25	70	90

с обычным Г — низкая частота развития тромбocyтoпeнии. Так как способность вызывать агрегацию тромбоцитов более выражена у высокомолекулярных фракций Г, включая НФГ, у больных с исходной тромбоцитопенией в качестве прямых антикоагулянтов лучше использовать НМГ. В то же время не следует назначать НМГ больным с индуцированной обычным Г тромбоцитопенией из-за высокой частоты перекрестных реакций с гепарин-зависимыми антигенами. Для лечения больных с индуцированной Г тромбоцитопенией рекомендуется использовать гепариноиды [22, 44], например, данапароид натрия. Этот препарат содержит смесь гликозаминогликанов: 84,0 % гепарина сульфата, 12 % дерматана сульфата, 4,0 % хондроитин сульфата, обладает анти-Ха активностью. Средняя м. м. данапароида 6,5 кДа. Препарат не обладает антитромбиновой активностью. Отношение активности против фактора Ха к активности против фактора IIa для данапароида равно 20:1.

Учитывая, что НМГ обладают относительно невысокой анти-IIa активностью, появляются работы [41], авторы которых ставят задачу создания препаратов с большей биодоступностью, сокращения Г-индуцированной тромбоцитопении и повышения анти-IIa активности. Предложен препарат НМГ с м. м. от 5,5 до 8,3 кДа, содержащий цепочку дисахаридов с 8–18 единицами. В препарате, по сравнению с коммерческими препаратами, увеличено содержание 3–0 сульфатов. Соотношение антифактор-Ха к антифактору-IIa от 0,5 до 3,5.

В последние годы проявляется большой интерес к получению и исследованию биологических свойств химически модифицированных аналогов Г или других антикоагулянтов [8, 22, 42]. Функционализация Г позволяет изменить физико-химические и биологические свойства Г. Конъюгаты Г с лекарственными субстанциями могут обладать большей растворимостью и продолжительностью действия по сравнению с НФГ и НМГ, могут использоваться как препараты комбинированного действия. Были предложены конъюгаты Г с новокаином, тауфоном, изониазидом и другими лекарственными препаратами [15]. Предложены способы получения нитропроизводных НМГ. Препарат представлял фракцию НМГ с м. м. от 3,0 до 6,5 кДа. Средняя м. м. ($5,0 \pm 0,4$) кДа. Препарат содержит нитрогруппы ONO_2 , ковалентно связанные с сахарами.

Анализ литературных данных позволяет сделать вывод о том, что НМГ обладают более продолжительной биологической активностью по сравнению с НФГ. Период полужизни ($T_{1/2}$) НМГ после внутривенного введения колеблется от 1,5 до 4,5 часов, в то время как $T_{1/2}$ для НФГ

составляет 50–60 мин. Биодоступность большинства НМГ после подкожной инъекции составляет более 90 %, в то время как для НФГ — лишь 15–25 %. Различны механизмы и пути клиренса НМГ и НФГ. Как известно, после внутривенного введения НФГ наблюдается две фазы элиминации — быстрая и медленная. Предполагают, что быстрая элиминация НФГ обусловлена его связыванием с рецепторами эндотелиальных клеток и макрофагов. В клетках происходит частичная деполимеризация и десульфатирование Г, после чего его небольшие фрагменты, по видимому, высвобождаются в кровоток, а затем выводятся почками. Фаза медленного клиренса, очевидно, начинается тогда, когда насыщены все клеточные рецепторы Г. Этими особенностями клиренса НФГ объясняется тот факт, что $T_{1/2}$ НФГ зависит от вводимой дозы. Клиренс НМГ более медленный и более равномерный, чем у НФГ. Это объясняется тем, что НМГ значительно хуже связываются с эндотелиальными клетками и белками плазмы крови. Выведение почками является основным путем элиминации НМГ. При почечной недостаточности $T_{1/2}$ НМГ значительно увеличивается. НМГ в значительно меньшей степени, чем НФГ, связываются с белками плазмы (например, богатым гистицином гликопротеидом, фактором 4 тромбоцитов и т.д.), которые способны нейтрализовать их антикоагулянтную активность. НМГ более резистентны к тромбоцитарному фактору 4, высвобождаемому из тромбоцитов при их активации. Именно низким сродством НМГ к гепарин-нейтрализующим белкам плазмы можно объяснить высокую биодоступность при их применении в низких дозах [6]. Все указанные особенности фармакокинетики и фармакодинамики НМГ обуславливают их несомненное преимущество. Другое преимущество НМГ перед НФГ — низкая частота развития тромбоцитопении. Частота тромбоцитопении при лечении НФГ колеблется от 1 до 3 % [12]. Тромбоцитопения чаще встречается при лечении препаратами Г, полученными из легких крупного рогатого скота (15,6 %), чем при лечении Г, выделенными из слизистой оболочки кишечника (5,8 %). Использование ЭПН — эффективный способ предупреждения тромбоэмболических осложнений у больных онкотаракального профиля при проведении комплексного лечения. Применение этого препарата не увеличивает объем интра- и послеоперационной кровопотери при онкотаракальных вмешательствах, включая расширенные операции и медиастинальную лимфодиссекцию, способствует сокращению продолжительности лимфо-реи и сопровождается уменьшением количества пневмоний, развивающихся на фоне индукцион-

ной полихимиотерапии и в послеоперационный период [17].

Таким образом, НМГ, так же как НФГ, являются катализаторами антитромбина III. Однако благодаря уменьшению количества мукополисахаридных цепей и соответственно уменьшению м. м., их антитромбическое действие более селективно и поэтому более предсказуемо, чем у НФГ, и главным образом заключается в инактивации фактора Ха. В меньшей степени НМГ влияют на фактор IIa, что уменьшает риск выраженных кровотечений, которые, в принципе, могут возникать на фоне любой антитромботической терапии. НМГ не связываются с эндотелием и обладают меньшей способностью связываться с белками плазмы. Это обуславливает большую биодоступность, значительное увеличение времени полувыведения и стабильный дозозависимый эффект при подкожном введении.

НМГ являются современными эффективными лекарственными средствами для лечения и профилактики различных тромбоэмболических состояний. НМГ действуют на различные механизмы системы свертывания крови, оказывают положительное влияние на клетки крови и эндотелия, ослабляя их проагрегатные свойства. Преимуществом препаратов данного фармакологического ряда является отсутствие необходимости регулярного и частого взятия крови для определения времени свертывания крови и АЧТВ.

Основными нежелательными эффектами НМГ являются кровотечения, тромбоцитопения и остеопороз. К редким нежелательным реакциям относят гипоальдостеронизм, преходящее повышение сывороточной активности аминотрансфераз и уровня свободных жирных кислот [12], аллергические кожные реакции и некроз кожи при подкожном применении. В контролируемых клинических исследованиях частота геморрагических осложнений при применении НМГ в целом была сопоставимой с таковой при лечении НФГ или ниже. Для купирования кровотечений, вызванных НМГ, может быть использован протамин, хотя он нейтрализует их активность менее эффективно, чем активность НФГ. Серьезным нежелательным эффектом НФГ является тромбоцитопения, которая развивается у 1–3 % больных и может привести к серьезным осложнениям. При лечении НМГ частота тромбоцитопении ниже, чем при использовании НФГ. При появлении тромбоцитопении на фоне введения НФГ его не следует менять на НМГ, учитывая высокую частоту их перекрестной реактивности с гепарин-зависимыми антителами. Остеопороз развивается при длительном применении НФГ,

особенно во время беременности. Случаи его описаны и при лечении НМГ, хотя препараты этой группы реже вызывают развитие остеопороза. Частота аллергических кожных реакций при лечении НМГ низкая, хотя, возможно, ее до сих пор несколько недооценивают. Аллергические реакции включают в себя крапивницу, некроз кожи, нередко сочетающийся с тромбоцитопенией, эритему.

Таким образом, проанализировав данные о побочном действии НМГ, зарегистрированных сегодня в Украине, мы можем отметить следующее: кровотечения в разных местах более частые у больных с другими факторами риска; описаны спорадические случаи тромбоцитопений, иногда тромбообразующих; кожные реакции; описаны отдельные случаи кожного некроза, обычно возникающие в месте введения, при применении НФГ и НМГ; небольшие гематомы в месте введения; обратимая эозинофилия; генерализованные реакции повышенной чувствительности, включая отек кровеносных сосудов; повышенный уровень трансаминаз; при использовании ЭПН описаны редкие случаи гематомы спинного мозга на фоне спинальной анестезии с развитием стойкого или необратимого паралича. Риск этого осложнения выше при использовании катетеров после операции.

Суммируя изложенное, можно заключить, что в настоящее время большинство исследователей считают НМГ по силе действия не уступающим НФГ. В то же время, препараты НМГ имеют ряд преимуществ, в том числе они приводят к значительно меньшему количеству осложнений.

Требования к качеству НМГ изложены в Государственной Фармакопее Украины и Европейской фармакопее. В соответствии с требованиями фармакопей НМГ представляют собой соли сульфатированных глюкозаминогликоканов со средней м. м. меньше 8,0 кДа, не менее 60 % общей массы которых имеют м. м. менее 8,0 кДа. НМГ имеют разную химическую структуру на концах полисахаридных цепочек, которые восстанавливают и не восстанавливают. Контроль осуществляют по следующим характеристикам: идентификация: А — ЯМР (в сравнении со стандартным образцом); В — определение отношения активности антифактора Ха к активности антифактора IIa (не менее 1,5); С — эксклюзивная хроматография (м. м. должны соответствовать препарату сравнения производителя); D — субстанция должна давать реакции либо на натрий, либо на кальций; рН; азот; кальций; натрий; молярное соотношение сульфат ионов к карбоксилат ионам — не менее 1,8; тяжелые ме-

таллы; бактериальные эндотоксины — менее 0,01 МЕ/МЕ анти-Ха активности; количественное определение — активность не менее 70 МЕ активности антифактора Ха (также проводят определение активности к антифактору Па). Проанализировав указанные тесты, мы не обнаружили методов, позволяющих оценить присутствие в препаратах Г гиперсульфатированного хондроитинсульфата и дерматансульфата. В то же время, именно с одним из этих компонентов — гиперсульфатированным хондроитинсульфатом — связывают серьезные побочные эффекты [14]. В настоящее время в России предложено всем производителям ввести в нормативную документацию тестирование субстанций по данному продукту. В качестве метода предлагается зональный капиллярный электрофорез. На электрофореграмме тестируемого раствора перед пиком Г не должен присутствовать пик гиперсульфатированного хондроитинсульфата. Допускается наличие пика дерматансульфата после пика Г. Также предлагается проведение ЯМР спектроскопии в диапазоне 1,5–2,5 м. д.; не допускается присутствие характерного сигнала для гиперсульфатированного хондроитинсульфата. Необходимо отметить, что ряд производителей вводит дополнительные тесты, например, на содержание дерматансульфата не более 0,9% (Shenzhen Hepflink (TONGDA) Biological Technology Co. LTD). Возможно применение масс-спектрологии для получения информации о структурной организации гликозаминогликанов [35].

В заключение хотелось бы отметить, что НМГ (дальтепарин, эноксапарин, надропарин и др.) существенно различаются между собой по фармакодинамике влияния на каскад свертывания и фармакокинетическим характеристикам. Анализ литературы позволяет рассматривать НМГ как различные препараты, каждый из которых характеризуется собственным профилем эффективности и безопасности. Таким образом, даже препараты с близким составом по м. м. все же отличаются друг от друга и по разному влияют на систему свертывания крови. Все НМГ отличаются между собой средней м. м., ее распределением и биологической активностью *in vitro* и *in vivo*. НМГ циркулируют в крови более длительный период, значительно дольше инактивируют (на фосфолипидных мембранах) фактор Ха (не снижая его синтез), минимально ингибируют тромбин. Высокое родство НМГ к антитромбину III, их пролонгированная антитромбиновая активность дают возможность использовать меньшие суточные дозы, при однократном подкожном введении надежно пре-

дотвращать тромбозы, в том числе и послеоперационные. После подкожного введения НМГ полностью адсорбируются и длительность полувыведения их анти-Ха активности почти в два раза больше, чем НФГ. В то же время, период элиминации анти-Па активности такой же, как у НФГ. Биодоступность НМГ достигает 90%. Даже при низких дозах доступность НМГ выше, чем у НФГ. Последнее связано с низкой аффинностью НМГ к эндотелию, белкам плазмы, внеклеточному матриксу [29], а также к фактору тромбоцитов-4, которые нейтрализуют антикоагулянтный эффект НФГ. НМГ усиливают фибринолиз: они высвобождают из эндотелия сосудов эндогенные антитромботические вещества и активаторы плазминогена, непосредственно повышают антитромботический потенциал стенок сосудов и опосредовано стимулируют выделение антитромботических гликозаминогликанов и простагланцинов — эффективных ингибиторов агрегации тромбоцитов и вазодилаторов, которые являются существенным компонентом антикоагулянтной активности этих Г. Одним из важнейших факторов для более широкого использования НМГ является экономия средств для лечения больных. Так, по данным ряда исследователей [34], учитывая, что терапевтический эффект наблюдается при приеме НМГ один раз в сутки, стоимость лечения практически в два раза ниже, чем при использовании НФГ. В отличие от НФГ, различные препараты НМГ могут быть дифференцированы по биологическим и клиническим признакам. НМГ рассматриваются специалистами как различные лекарственные средства, требующие определения дозировки и спецификаций для каждого продукта. Различия между НМГ обусловлены их молекулярными и структурными свойствами [26]. В зависимости от метода деполимеризации (химическая (эноксапарин), ферментативная (тинзапарин), обработка азотистой кислотой (дальтепарин), окислением (ардепарин)) мы сталкиваемся с различными по составу и свойствам препаратами. В каждом препарате установлено разное соотношение отдельных цепей Г, определяющие отличия м. м. Любые минимальные изменения технологического процесса могут изменять ряд свойств препаратов НМГ. Таким образом, существует вероятность, что могут быть определенные различия между различными препаратами НМГ [25, 37].

В то же время при клиническом применении НМГ имеется проблема правильного подбора препарата и его вводимой дозы, что вызвано отличающимися свойствами Г из-за различной специфичности, м. м., различного состава и наличия сопутствующих примесей.

ВЫВОДЫ

По нашему мнению, в субстанциях препаратов необходимо определять содержание каждой молекулярной фракции. Кроме того, необходим контроль препаратов по другим примесным компонентам: хондроитинсульфату (присутствие в препаратах хондроитинсульфата [24] может приводить к реакциям анафилактического типа), гиперсульфатированному хондроитинсульфату, дерматансульфату и др. Используемые сегодня НМГ должны рассматриваться как оригинальные, а не генерические препараты, отличающиеся по способам получения, составу и клиническому действию. По данным авторов [23, 37, 41], метод производства НМГ может существенно влиять на их фармакокинетические свойства и антикоагуляционную активность. Все это требует проведения соответствующих исследований по изучению физико-химических, биологических и клинических свойств НМГ при освоении и внедрении лекарственных форм НМГ. Перспективы есть у тех производителей НМГ, которые сумеют своевременно дополнить требования аналитической документации характеристиками, позволяющими стандартизовать препараты НМГ с целью снижения побочного действия.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Амосова К. М. Застосування фраксипарину при гострих коронарних синдромах//Укр. Мед. Часопис. — 1999. — № 2. — С. 129–134.
- Банникова Г. Е. Гидролиз гепарина иммобилизованным ферментным комплексом *Streptomyces kurssanovii*/Г. Е. Банникова, П. П. Столбушкина, Н. Н. Дрозд/Прикладная биохимия и микробиология. — 2004. — № 4. — С. 46–52.
- Варламов В. Л., Банникова Г. Е., Макаров В. А. и др. Способ получения низкомолекулярных гепаринов. Патент РФ № 2248801. Опубликовано 27.03.2005. Бюл. № 9. 2005.
- Вельцель Д. Гепарин со средней молекулярной массой. Патент РФ № 2322245. Опубликовано: 20.04.08 Бюл. № 11. 2008.
- Голота В. Я. Фармакологические особенности и клиническое применение низкомолекулярных гепаринов/В. Я. Голота, М. Ш. Гамисония//Лікарська справа. — 1998. — № 8. — С. 15-17.
- Грацианский Н. А. Эноксапарин не лучше нефракционированного гепарина в условиях стратегии лечения больных острым коронарным синдромом без подъемов сегмента ST на ЭКГ — эффективность та же, кровотоки больше//Кардиология. — 2004. — № 5. — С. 77–79.
- Дикун Я. В. Низкомолекулярні гепарини у лікуванні хворих з гострими коронарними синдромами//Український медичний часопис. — 1999. — № 2. — С. 57–60.
- Дрозд Н. Н. Антикоагулянтная активность сульфатированных полисахаридов/Н. Н. Дрозд, Г. Е. Банникова, В. А. Макаров, В. Н. Варламов//Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2006. — № 6. — С. 51–62.
- Ковалів Б. Гепарин і гепариноїди у клінічній практиці/[Б. Ковалів, Ю. Ковалів, І. Ковалів]; Львів: Львівський державний університет, 2003. — 346 с.
- Колесник М. О., Лапчинська І. І., Козачок М. М. та ін. Низкомолекулярні гепарини: особливості антикоагулянтної дії, застосування в терапевтичній клініці. Журнал АМН України. 1998. — Т. 4. — № 4. — С. 630–639.
- Копица Н. П., Литвин Е. И., Петюнина О. В. Низкомолекулярные гепарины как обязательный компонент терапии больных острым коронарным синдромом без элевации сегмента ST. Врачебная практика. 2007. — Т. 57 — № 3 — С. 17–21.
- Моисеев В. С. Низкомолекулярные гепарины. Клиническая фармакология и терапия. 2000. — Т. 9. — № 1. — С. 72–78.
- Пархоменко О. М., Іркін О. І., Скаржевський А. А. та ін. Антикоагулянтна активність надпропарину кальцію у хворих з гострим інфарктом міокарда після фібринолітичної терапії стрептокіназою. Укр. Мед. Часопис. 2001. — № 1. — С. 23–27.
- Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития 2008 г. № 03И-578/08 «О контроле качества посторонних примесей в препаратах гепарина».
- Понеделькина И. Ю., Одинокоев В. Н., Лукина Е. С. и др. Способ получения конъюгатов гепарина. Патент РФ. № 2298406. Опубликовано: 10.05.2007.
- Столбушкина П. П., Дрозд Н. Н., Банникова Г. Е. и др. Получение и исследование антикоагулянтной активности образцов низкомолекулярных гепаринов. Хим.-фармацевтический журнал. 2004. — Т. 38. — № 2. — С. 71–74.
- Суховерша А. А., Завизион В. Ф., Артюшенко Л. Т. Низкомолекулярные гепарины в комплексном лечении больных с местнораспространенными формами рака легкого

- илимолочной железы. Онкология. 2002. 4. № 3. с. 232–233.
18. Черный В.И., Колесников А.Н., Кузнецова И.В. и др. Фраксипарин в профилактике тромбозов легочной артерии в общей хирургии. Здоровье Украины. 2007. — № 4. С. 20–21.
 19. Alban S., Weizel D., Hemker H Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of a medium-molecular-weight heparin in comparison with UFH and LMWH Semin. Thromb. Hemost. 2002. — V. 28. — № 4. — P. 369–378.
 20. Ambrosi L., Gonella S., Vismara E Process for the physical depolymerization of glycosaminoglycans and products obtained the refrom. US Patent. N. 7091337. — 2006.
 21. Ambrosi L., Gonella S., Bensi D., Multistep process for the physical depolymerization of heparin and products obtained the refrom. US Patent. N. WO/2005/035587. — 2005.
 22. Bates S.M., Weitz J.I. New anticoagulants: beyond heparin, low molecular weight heparin and warfarin. British J. of Pharmacology. 2005. — V. 144. — N. 8. — P. 1017–1028.
 23. Bazargani P., Albrektsson A., Yahyapour N., Braide M Low molecular weight heparin improves peritoneal ultrafiltration and dlocks complement and coagulation. Perit. Dial. Int. 2005. — V.25. — N. 4. — P. 394–404.
 24. Delattre C, Michhaud P., Courtois J., Vijayalakshmi J Study of specific interactions between glucuronic acid and amino acids at the interface using pseudo bioaffinity chromatography and NMR — studies. Current Science. 2008. — V. 94. — N. 10. — P. 1279–1284.
 25. Dolovich L.R., Ginsberg J.S., Douketis I.D. et al. A meta-analysis comparing Low-Molecular — Weight Heparins with unfractionated Heparin in the Treatment of Venous Thromboembolism. Archive of internal. Medicine. 2000. — V. 160. — N 2. — P. 181–188.
 26. Fareed J., Walenga J.M. Why differentiate Low molecular weight heparins for venous thromboembolism. Thrombosis J. 2007. — V. 5. — N. 10. — P. 1477–1186.
 27. Gallieni M., Corrolino M., Ronga C., Brancaccio D Low molecular weight heparins should be used with caution in patients with chronic kidney disease. Nature Clinical Practice Nephrology. 2008. — V. 4. — N. 19. — P. 488–489.
 28. Hirsh J., Levine M.N. Low molecular weight heparin. Blood. 1992. — V. 79. — N. 1. — P. 1–17.
 29. Hirsh J., Shaklee N., Knobloch J. et al. Processes for the preparation of low-affinity, low molecular weigh heparins useful as antithrombotics. US Patent. N. 5,767,269. Jun.16, 1998.
 30. Holmer E., Soderberg K., Bergvist D. et al. Heparin and its low molecular weight derivates: anticoagulant and antithrombotic properties. Haemostasis. 1986. — V. 16. — N 1. — P. 1–12.
 31. Leveugle B., Ding W., Laurence F Heparin oligosaccharides that puss the blood-brain barrier inhibit beta-amyloid precursor protein secretion and heparin binding to beta-amyloid peptide. J. Neurochem. 1998. — V. 70. — N2. — P. 736–744.
 32. Lormeau J.C. Structural characteristics and pharmacological profile of Fraxiparine. Fraxiparine. Third International Symposium. Adis International. — Chester, 1994. P.17–25.
 33. Nenci G Low molecular weight heparin: are they interchangeable? No. J. Thromb. Haemost. 2003. — V. 1. — N. 1. — P. 12–13.
 34. O'Brien B., Levine M., Willan A. et al. Economic evaluation of outpatient treatment with Low — Molecular-Weight Heparin for Proximal Vein Thrombosis. Arch. Intetn. Med. 1999. — V. 159. — N 25. — P. 2298–230.
 35. Ola M.S., Heiner E., Kenji U. et al. Compositional profiling of heparin/heparin sulfate using mass-spectrometry: assay for specificity of novel extracellular human endosulfatse. Glycobiology. 2005. — V. 15. — N 8. — P. 818–826.
 36. Ostergaard P.B., Nilsson B., Bergqvist D. et al. The effect of low molecular weight heparin on experimental thrombosis and homeostasis — the influence of production method. Tromb. Res. 1987. — V. 45. — N 5. — P. 739–749.
 37. Pedersen P.C., Ostergaard P.B., Hedner U. et al. Pharmacokinetics of a low molecular weight heparin, Logiparin, after intravenous and subcutaneous administration to healthy volunteers. Thromb. Res. 1991. — V.61. — N4. — P. 477–487.
 38. Planes A Review on bemiparin sodium — a new second generation low molecular weight heparin and its application in venous thromboembolism. Expert Opin Pharmacother. 2003. — N 4. — P. 1551–1561.
 39. Ragner F., Rasmus O Process for the production of Low molecular weight heparin. EU Pa-tent. N. 1899384. 2008.
 40. Rosenberg J., Breitenbach J., Dieter H. et al. Formulation based on heparin, glycosaminoglycan or heparinoid, use of the formulation and the formulation base. US Patent N. 7,393,840. Jul. 1, 2008.

41. Rota C., Livenari L., Spelta F. et al. Free radical generation during chemical depolimerization of heparin. *Anal Biochem.* 2005. — V. 344. — N 2. — P. 193–203.
42. Vismura E., Pierini M., Gudlieri S. et al. Structural modification induced in heparin by a Fenton-type depolymerization process. *Semin Thromb. Hemost.* 2007. — V. 33. — N 5. — P. 466–477.
43. Zhang Z., Weiwer M., Li B. et al. Oversulfated chondroitin sulfate: Impact of a heparin impurity, Associated with adverseclinical Events on Low molecular weight heparin preparation. *J. Med. Chem.* 2008. — V. 51. — N 18. — P. 5498–5501.

УДК

ДО ПИТАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ

Г.І. Борщевський, М.І. Борщевська

Ключові слова: гепарин, тромбоцит, протитромбічна активність, анти-Ха

В статті розглядаються питання застосування гепаринів з різними молекулярними масами, залежності біофармацевтичної ефективності від способу отримання та складу препаратів. Обговорюється вплив складу гепаринів та ряду домішок на прояв побічних ефектів препаратів, розглянуте питання про необхідність стандартизації субстанцій та готових лікарських форм по молекулярних масах та присутніх домішках. Низькомолекулярні гепарини, що сьогодні використовуються, мають розглядатися як оригінальні, а не генеричні препарати, що відрізняються за шляхами отримання, складом та клінічною дією. Це потребує проведення відповідних досліджень по вивченню фізико-хімічних, біофармацевтичних та клінічних властивостей низькомолекулярних гепаринів при їх опануванні та впровадженні.

UDK

ON THE ISSUE OF LOWMOLECULAR WEIGHT HEPARIN

G.I. Borshevsky, M.I. Borshevskaya

Key words: heparin, platelet, antiplatelet activity, anti-Xa

This article discusses the use of heparin with different molecular masses, depending biopharmaceutical performance of the method of obtaining and of drugs. The effect of heparin and a number of impurities in the manifestation of drug's side effects, raised the need for standardization of ingredients and finished dosage forms of molecular weight and impurities presence. Used today, lowmolecular weight heparin should be considered as original, not the generic drugs differ on obtaining way, structure and clinical action. This calls for appropriate research into the physico-chemical, biopharmaceuticals and clinical properties of lowmolecular weight heparin in their development and implementation.

Адрес для переписки:

04080, г. Киев, ул. Фрунзе 63,

ОАО «Фармак»

Тел. 8 (044) 496-89-26