

**АНТИТРОМБОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОВЕРТИНА НА МОДЕЛИ
ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЗА У КРЫС**

Иванов И.С., Сидехменова А.В., Смольякова В.И., Тюкавкина Н.А., Плотников М.Б.

*Учреждение Российской академии медицинских наук научно-исследовательский
институт фармакологии Сибирского отделения РАМН, Томск*

634028, г. Томск, пр. Ленина, 3, 418373, mbp2001@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Целью работы являлось исследование антитромбогенной активности новой антиоксидантной композиции на основе дигидрокверцетина и липоевой кислоты (липовертин) на модели венозного тромбоза. Показано, что липовертин при курсовом (7 суток) внутривенном введении в дозе 100 мг/кг достоверно ограничивает тромбообразование.

Ключевые слова: венозный тромбоз, антитромбогенная активность, липовертин, дигидрокверцетин, липоевая кислота.

**ANTITHROMBOGENIC ACTIVITY OF LIPOVERTIN IN MODEL OF VENOUS
THROMBOSIS IN RATS**

Ivanov I.S., Sidekhmenova A.V., Smoljakova V.I., Tyukavkina N.A., Plotnikov M.B.

*Establishment of the Russian Academy of Medical Sciences Research Institute of Pharmacology,
Siberian Branch of RAMS, Tomsk*

SUMMARY

The purpose of this work was to research the antithrombogenic activity of new antioxidant composition on the base dihydroquercetin and lipoic acid (lipovertin) in model of a venous thrombosis in rats. The significant limitation of thrombosis was demonstrated after course i.g. administration of lipovertin (100 mg/kg i.g., during 7 days).

Key words: venous thrombosis, antithrombogenic activity, lipovertin, dihydroquercetin, lipoic acid.

Введение

Тромбоэмболия вен, включающая в себя тромбоз глубоких вен и тромбоэмболию легочной артерии, занимает одно из лидирующих мест по числу заболеваний и смертности. В США каждый год регистрируется 1 млн. пациентов с тромбоэмболией вен, из них у 300 тыс. регистрируется тромбоэмболия легочной артерии, которая в 1/3 случаев заканчивается летальным исходом [1, 2]. Тромбоэмболия вен занимает третье место среди общего числа сосудистых заболеваний после инфаркта и инсульта [3]. К тому же тромбоз глубоких вен и тромбоэмболия легочной артерии приводит к постромбофлебитическому синдрому у пациентов до 50% случаев [4]. Повреждение венозной стенки, стаз крови и повышенная свертываемость крови являются пусковыми механизмами проксимальных венозных тромбозов глубоких вен [5]. Таким образом, тромбоэмболия вен является не только причиной высокой смертности, но также приводит к значимым осложнениям.

В литературе описана возможность антиоксидантов, различной природы, предотвращать тромбообразование [6-10].

Цель – исследование антитромбогенной активности новой антиоксидантной композиции на основе дигидрохверцетина и липоевой кислоты (липовертин) на модели венозного тромбоза.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 11 крысах Wistar массой 300–320 г. Животным опытной группы в течение 7 суток ежедневно вводили липовертин внутривенно в дозе 100 мг/кг (соотношение дигидрохверцетина и липоевой кислоты 1:1) в виде взвеси в 1% крахмальной слизи; животные контрольной группы получали 1% крахмальную слизь в эквивалентном количестве. Через час после последнего введения липовертина моделировали венозный тромбоз методом, описанным I. Reyers et al. [11]. Для этого животных наркотизировали (уретан, внутривенно 1 г/кг), вскрывали брюшную полость, выделяли полую вену и перевязывали ее хлопковой нитью дистальнее левой почечной вены. После чего брюшную полость послойно ушивали. Через 2 часа проводили лапаротомию, участок вены длиной 7 мм иссекали. Тромб выделяли из просвета сосуда, избыток крови удаляли фильтровальной бумагой. Оценивали массу влажного тромба [12]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 8.0». Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Для оценки достоверности межгрупповых различий использовали непараметрический Mann-Whitney U test.

Результаты

Стаз, вызванный перевязкой поллой вены у крыс, приводил к формированию тромбов со средней массой $3,19 \pm 0,38$ мг. Профилактическое введение липовертина в течение 7 суток ограничивало тромбообразование. Масса тромба у животных, получавших липовертин, была меньше на 55% по сравнению с массой тромба животных контрольной группы ($p=0,006$) (табл.).

Таблица. Влияние курсового внутрижелудочного введения липовертина (100 мг/кг) на массу тромба

Группы животных	Масса тромба, мг
Контроль, n=6	$3,19 \pm 0,38$
Липовертин, n=5	$1,45 \pm 0,22^+$

⁺ – $p=0,006$ по сравнению со значениями у контрольных животных.

Обсуждение

Повреждение сосудистой стенки (воспалительного, атеросклеротического или другого происхождения), повышение свертываемости крови и замедление кровотока являются основными механизмами тромбообразования и составляют триаду Вирхова.

Стаз – важнейший механизм, предрасполагающий к тромбообразованию. Используемая модель стаз-индуцированного тромбоза, сопровождается быстрой дилатацией поллой вены и образованием тромба. По данным J. Zhou et al. [13] основными механизмами тромбообразования в условиях используемой модели являются повреждение сосудистой стенки, увеличение экспрессии тканевого тромбопластина и прекращение тока крови. Кроме того, лигирование вены приводит к гипоксемии, которая играет важную роль в экспрессии молекул адгезии эндотелия сосудов и способствует адгезии лейкоцитов [14]. На модели стаз-индуцированного венозного тромбоза показана адгезия тромбоцитов к стенке сосуда, обнаружены тромбоцитарные агрегаты в тромбе и поверхности фибриновых волокон. Показано, что тромбы, формирующиеся в условиях используемой модели, состоят из тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов [13].

Возможные механизмы антитромбогенной активности липовертина обусловлены свойствами обоих его компонентов. Так, известно, дигидрокверцетин способен подавлять индуцированную агрегацию тромбоцитов за счет уменьшения уровня тромбоксана B_2 , и МДА в тромбоцитах, подавления освобождения цитоплазматического Ca^{2+} , повышения

уровня циклических нуклеотидов в тромбоцитах [15–17]. Кроме того, дигидрокверцетин способен снижать агрегацию эритроцитов [7].

Недавно проведенные исследования показали, что липоевая кислота также способна проявлять антитромбоцитарный эффект [18, 19]. Авторы полагают, что антитромбоцитарная активность липоевой кислоты связана с повышением образования цАМФ, включая последующее ослабление мобилизации Ca^{2+} и ингибирование тромбоксана B_2 и протеинкиназы C. Предотвращение образования реактивных форм кислорода и увеличение текучести мембран тромбоцитов под действием липоевой кислоты может также обуславливать её антитромбоцитарную активность [18]. Z. Ying и соавторы установили, что липоевая кислота снижает экспрессию ключевых молекул адгезии сосудистой системы [20].

Изложенные результаты исследований свойств каждого из компонентов липовертина в достаточной степени отражают возможные механизмы его антитромбогенной активности.

Выводы

1. Лигирование поллой вены у крыс в течение 2 ч приводит к формированию тромбов.
2. Липовертин в дозе 100 мг/кг проявляет антитромбогенную активность, ограничивая тромбообразование у крыс на модели венозного тромбоза.

Литература

1. Lilienfeld D.E., Chan E., Ehland J. et al. Mortality from pulmonary embolism in the United States: 1962 to 1984 // *Chest*. – 1990. – № 98. – P. 1067–1072.
2. Lilienfeld D.E. Decreasing mortality from pulmonary embolism in the United States, 1979–1996 // *Int. J. Epidemiol.* – 2000. – № 29. – P. 465–469.
3. Coombes R. Venous thromboembolism caused 25000 deaths a year, say MPs // *BMJ*. – 2005. – № 330. – P. 559.
4. Kahn S.R., Ginsberg J.S. Relationship between deep venous thrombosis and the postthrombotic syndrome // *Arch. Intern. Med.* – 2004. – № 164. – P. 17–26.
5. Lopez J.A., Kearon C., Lee A.Y. Deep venous thrombosis // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. – 2004. – P. 439–456.
6. Wollny T., Chabielska E., Malinowska-Zaprzaka M. et al. // Effects of Bulgarian red and white wines on primary hemostasis and experimental thrombosis in rats // *Pol. J. Pharmacol.* – 2003. – № 55. – P. 1089–1096.

7. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. – Томск. Изд-во Том. ун-та, 2005. – 228 с.
 8. Tanous D., Bräsen J.H., Choy K. et al. Probucol inhibits in-stent thrombosis and neointimal hyperplasia by promoting re-endothelialization // *Atherosclerosis*. – 2006. – Vol. 189, № 2. – 342–349.
 9. Takahashi O. Decrease in blood coagulation factors II (prothrombin), VII, IX and X in the rat after a single oral dose of butylated hydroxytoluene // *Food Chem. Toxicol.* – 1987. – Vol. 25, № 3. – P. 219–224.
 10. Kim Mo., Lee K. Antithrombotic activity of methanolic extract of *Umbilicaria esculenta* // *J. Ethnopharm.* – 2006. – Vol. 105, Issue 3. – P. 342–45.
 11. Reyers I., de Gaetano G., Donati M.B. Venostasisinduced thrombosis in rat is not influenced by circulating platelet or leukocyte number // *Agents Action*. – 1989. – № 28. – P. 137–141.
 12. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. 3 Edithion / H. Gerhard Vogel (Ed.) / Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. – 2008 – 2071 p.
 13. Zhou J., May L., Liao P. et al. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – № 29. – P. 863–869.
 14. Lawson C.A., Yan S.D., Yan S.F. et al. Monocytes and tissue factor promote thrombosis in a murine model of oxygen deprivation // *J. Clin. Invest.* – 1997. – № 99. – P. 1729–1738.
 15. Ядигарова З.Т., Кубатиев А.А., Тюкавкина Н.А. Влияние ДКВ на взаимодействие тромбоцитов с моноцитами // *Человек и лекарство: Материалы IX Рос. Конгресса М., 2002.* – С. 370.
 16. Ядигарова З.Т., Кубатиев А.А., Тюкавкина Н.А. Влияние ДКВ на содержание $[Ca^{2+}]_{цит.}$ и циклических нуклеотидов в моноцитами активированных тромбоцитах // *Человек и лекарство: Материалы IX Рос. Конгресса М., 2002.* – С. 730.
 17. Кубатиев А.А., Ядигарова З.Т., Рудько И.А. и др. Диквертин – эффективный ингибитор агрегации тромбоцитов флавоноидной природы // *Вопр. биол., мед. и фармацевтич. химии.* – 1999. – №3. – С. 47–50.
 18. Lai Y., Shih C., Huang Y., Chou T. Antiplatelet activity of α -lipoic acid // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58, № 15. – P. 8596–8603.
- Navarese E.P., Mollo R., Buffon A. Effect of alpha lipoic acid on cardiac autonomic dysfunction and platelet reactivity in type 1 diabetes: Rationale and design of the AUTOOnomic function

and platelet reactivity trial (auto-react protocol) // **Diabetes Res. Clin. Pract.** – 2010. –
Sep. 27.

19. Ying Z., Nisharahmed K., Farrar B. Lipoic acid effects on established atherosclerosis //
[Life Sci.](#) – 2010. – Vol. 86, № 3-4. – P 95–102.