

На правах рукописи

Багумян Эдуард Врежевич

**ВНУТРИСОСУДИСТОЕ СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К
ТРОМБИНУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ С-ВИТАМИННОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ
ОРГАНИЗМА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.00.04 – Биохимия

Автореферат диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Тюмень - 2007

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель: доктор медицинских наук профессор
Шаповалов Петр Яковлевич.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук профессор
Соловьев Владимир Георгиевич

доктор медицинских наук профессор
Высокогорский Валерий Евгеньевич

Ведущее учреждение: ГОУ ВПО Башкортостанский
Государственный медицинский университет Росздрава

Защита состоится «_____» _____ 2007 г в 9 часов на заседании диссертационного Совета ДМ 212.274.07 при ГОУ ВПО Тюменском государственном университете по адресу: г. Тюмень, ул. Пирогова. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки Тюменского государственного университета

Автореферат разослан _____ 2007 г

**Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук профессор**

Е.А.Чирятьев

Общая характеристика работы

Витамин С - обязательный компонент питания для большинства представителей животного мира - определяет течение многих процессов жизнедеятельности [В.В.Ефремов, 1949; Б.А.Лавров, 1951; П.Н.Шараев, 2003; В.П.Мищенко и др., 2005; Chen C.Y. e.a., 2005; E.C.Kennett e.a., 2006]. Гемостаз также зависит от обеспеченности этим витамином, что и обусловило внимание к изучению связи гемостаз-витамин С. Первоначально у больных со скорбутом не находили гипокоагулемии [В.В.Пашутин, 1902], но позже отметили позитивный эффект аскорбиновой кислоты (АК) на свертываемость крови при С-гиповитаминозе [В.М.Новодворский, 1928; Г.Я.Каган, 1953; Cooper M.J e.a., 2006; Kumari J. e.a. 2006; Xie Z. e.a., 2006]. При некоторых формах кровоточивости дополнительное введение АК сокращало время свертывания крови и повышало активность ф. II [А.А.Ахрарходжаев, 1961; Cotti, Larizza, 1936; Duckerhoff e.a., 1940]. Выяснилось, что скорбут сопровождается тромбоцитопенией [А.Л.Мясников, 1938; P.Varghan e.a., 1942], дефицитом фф. I, II [В.Копалейшвили и др., 1960] и гипокоагулемией. С-витаминотерапия устраняла эти сдвиги, не влияя на те же показатели у лиц без дефицита витамина С, поэтому допускали нормализующее действие АК на некоторые прокоагулянты и общую свертываемость [С.М.Рысс и др., 1945; Duckerhoff H. e.a., 1940], чему, однако, противоречили другие наблюдения [М.В.Игнатьева, 1963; К.И.Степашкина, 1939, Б.И.Рубинштейн и Е.В.Лебедева [1940].

Эффекты АК положительны при гинекологических и других видах кровоточивости [Б.И.Кузник и др., 1964, 1974, 1976;; Junghans, 1935; Vogt, 1935]. Находили, однако, что АК, оказывая гемостатическое действие при климактерических кровотечениях, не влияет на время свертывания и содержания тромбоцитов [М.М.Домбровский, 1964], что связывали с действием АК на состояние сосудов [В.Копалейшвили и др., 1960]. Связь между С-гиповитаминозом и склонностью к геморрагии подтвердилась экспериментально [И.С.Краевская, 1940], а работы лаборатории проф. Б.А.Кудряшова (МГУ) указали как на причину кровоточивости при С-дефицитах тромбоцитопению и малую тромбопластическую активность тромбоцитов [Г.В.Андреевко, Н.П.Сытина, 1959; Г.В.Андреевко, 1960; Г.В.Андреевко, Л.В.Лютова, 1969]. Подтверждалась возможность влияния АК на гемостаз при С-дефицитах и через изменение активности прокоагулянтов [В.С.Шевченко, 1969; Л.В.Лютова, 1971; Cotti Z., Larizza, 1936; Sen. e.a., 1994]. Находили, что АК не влияя заметно на свертываемость крови при нормальной обеспеченности витамином С, вызывает гипокоагулемию после длительного [В.П.Мищенко и др., 2005] и кратковременного введения в умеренных дозах АК у здоровых [А.В.Костинская, 1958]. Находили небольшой рост уровня ф. VIII:ФВ и снижение активатора профибринолизина при дефиците витамина С [Tofler. e.a., 2000], установлена зависимость между ЛПО и уровнем маркеров ВТФ при аденоме простаты, атеросклерозе сосудов нижних конечностей, ИБС и токсическом зобе [И.Физдель, 2004; Э.Н.Согрин, 2005; И.Г.Леонтьев, 2006; А.В.Фатеев, 2006], при введении половых стероидов и других прооксидантов [П.Я.Шапалов, А.И.Бродер, 2002; И.А.Аптекарь, 2003]. То же нашли у беременных и родильниц с поздним гестозом [Е.А.Винокурова, 2006]. При всех этих состояниях препараты, содержащие витамин С, ограничивали сдвиги ЛПО и свертываемости крови.

Выявлена роль С-витаминной обеспеченности в состоянии гемостаза при умеренной гомоцистеинемии, повышающей риск тромбозов через рост адгезивных свойств эндотелия - АК блокирует эффекты гомоцистеина [Labinjoh. e.a., 2001; Labinjoh e.a., 2001]. Нагрузки АК, не влияя на уровни активатора и ингибитора профибринолизина ткани, ФГ, ф. VIII:ФВ и на вязкость крови на фоне нормы, повышают уровень ф. VIII:ФВ [Tofler. e.a., 2000], снижают активность эндотелия, скорость ЛПО и активность фибри-

нолиза на фоне С-авитаминоза у пациентов с интолерантностью к глюкозе и у курильщиков [Antoniades e.a., 2003; Tomiyama e.a., 2003], усиливают ответ сосудов на вазодилататоры [Pellegrini e.a., 2004], как впрочем, и другие антиоксиданты [Sumitra.e.a., 2001; Chen e.a., 2005], предотвращают активацию тромбоцитов, увеличивая выход NO из полиморфноядерных лейкоцитов [Raghavan.e.a., 2003]. Все эти данные, однако, не характеризуют общего состояния системы, ответственной за стабилизацию крови при экстремальных воздействиях, изменяющих ЛПО [В.П.Мищенко, 1981; А.Ш.Бышевский и др., 2004, 2005, 2006] и толерантность организма к тромбиногенезу [М.К.Умутбаева, 2005].

Так как нельзя составить ясного представления о характере влияния дефицита или избытка витамина С на непрерывное внутрисосудистое свертывание, об интенсивности которого можно судить о склонности к тромбообразованию или кровоточивости [И.Н.Бокарев, 2000; Д.М.Зубаиров, 2000; М.К.Умутбаева, 2003; П.Я.Шаповалов и др., 2005; Gawaz., 2001], мы провели исследования, которые, как нам казалось, позволят получить важные для теории и практики медицины данные, позволяющие обосновать использование АК как средства направленного воздействия на систему гемостаза.

Цель исследования. Экспериментально изучить изменения интенсивности внутрисосудистого свертывания крови и толерантности к тромбину (способности реагировать на гипертромбинемия) в зависимости от уровня С-витаминной обеспеченности организма.

Задачи: 1. Изучить агрегационную активность тромбоцитов, их способность высвобождать фф. P₃ и P₄, содержание продуктов ВТФ и толерантность к тромбину у несинтезирующих витамин С животных (морские свинки) при содержании их на рационе питания, отчасти или полностью лишённого витамина С; 2. То же изучить при введении избытка витамина С морским свинкам на фоне полноценного питания; 3. Изучить то же у витамин С-синтезирующих животных (белые крысы) при содержании их на рационе питания, свободном от витамина С и содержащем его; 4. Изучить в опытах на свинках зависимость эффектов витамина С на уровень маркеров ВТФ, толерантность к тромбину и активность тромбоцитов при угнетении или активации процессов ЛПО.

Научная новизна.

Установлено, что между уровнем маркеров ВТФ, характеризующим интенсивность внутрисосудистого свертывания крови, и толерантностью к тромбину у животных, несинтезирующих витамин С при С-гипо-, С-авитаминозе и избыточном введении АК существует обратная зависимость - при дефиците витамина С растет содержание маркеров ВТФ, а толерантность к тромбину падает, при дополнительном введении АК содержание маркеров ВТФ снижается, а толерантность к тромбину растет.

Показано, что толерантность к тромбину и содержание маркеров ВТФ изменяются у животных, не синтезирующих витамин С, с увеличением длительности их содержания на С-авитаминном рационе.

Впервые показано, что у животных, синтезирующих витамин С, его отсутствие в рационе не ведет к снижению толерантности к тромбину и росту уровня маркеров ВТФ; при введении избытка АК на фоне полноценного рациона питания уровень маркеров ВТФ у них снижается, а толерантность растет с увеличением дозы АК. В то же время у животных, несинтезирующих витамин С, существует параллелизм между ускорением непрерывного внутрисосудистого свертывания крови и ростом интенсивности ЛПО, у синтезирующих витамин С животных эта зависимость менее выражена.

Практическая ценность работы

1. Полученные данные обосновывают необходимость контролировать интенсивность внутрисосудистого свертывания крови путем оценки содержания плазменных маркеров

ВТФ при состояниях с недостаточной обеспеченностью организма витамином С. 2. Полученные нами данные использованы при написании двух монографий: «О роли щитовидной железы в регуляции гемостаза», М.: Медицина. - 2006) и «Витамины, внутрисосудистое свертывание крови и липидпероксидация» (Москва: Медицина. - 2006). 3. Результаты работы внедрены в практическую деятельность ряда лечебных учреждений г. Тюмени и Тюменского региона.

Положения, выносимые на защиту

1. Дефицит витамина С у несинтезирующих его животных ведет к ускорению непрерывного внутрисосудистого свертывания крови и ослаблению защитной реакции организма на гипертромбинемия при одновременной интенсификации процессов перекисного окисления липидов и снижении антиоксидантного потенциала.

2. Нагрузки аскорбиновой кислотой в дозах, превышающих суточную потребность в 2-3 раза, ведут к снижению интенсивности липидпероксидации и внутрисосудистого свертывания крови при одновременном росте толерантности к тромбину, а при значительном (четырёх- и восьмикратном) избытке аскорбиновая кислота проявляет прооксидантный эффект, особенно у животных, синтезирующих витамин С.

3. Зависимость уровня маркеров интенсивности непрерывного внутрисосудистого свертывания крови и толерантности к тромбину от витамина С определяется его свойством поддерживать способность тромбоцитов к агрегации и к высвобождению фф. P₃ и P₄.

Апробация и публикация. Результаты работы опубликованы: 1. В рецензируемых медико-биологических журналах – 2 статьи; 2. В монографиях «Витамины, внутрисосудистое свертывание крови и липидпероксидация» (М.: Медицина, 2006. – 95 с); «О роли щитовидной железы в регуляции гемостаза» М.: Медицина. - 2006. - 95 с) 3. В виде главы в упомянутой монографии; 4. В материалах республиканских, международных и зарубежных конференций, в заочной электронной конференции, проводимой РАЕ.

Доложены: на научн. конф. «Биологически активные добавки к пище - нутрицевтики - и их использование с профилактической и лечебной целью при наиболее распространенных заболеваниях» (Тюмень, 1995); III Российской (с международным участием) конференции в НЦ ССХ им. Бакулева (Москва).

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 146 страницах, содержит 12 таблиц и 9 рисунков, включает введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы, методы и результаты), обсуждение, выводы и практические рекомендации, список литературы (333 публикации - 216 отечественных и 117 зарубежных).

Материалы и методы исследований

Работа выполнена на морских свинках (252 особи, 360±20 г) и нелинейных белых крысах (512 особей, масса тела 175±15 г и 200±16 г). Свинки выбраны потому, что они не синтезируют витамина С, являясь корректным объектом для моделирования С-гиповитаминоза [Е.Б.Меньшикова и др., 2006], в том числе и при изучении гемостаза [Г.В.Андреевко, Н.П.Сытина, 1958-1960; Г.В.Андреевко, Л.В.Лютова, 1969; А.Ш.Бышевский, 1967, 1969; Б.А.Кудряшов, 1975]. Выбор крыс связан с тем, что для них разработан оптимальный рацион питания, известна суточная потребность в витаминах, тем, что состояние гемостаза под влиянием разнообразных воздействий преимущественно изучали на крысах. У крыс и свинок удобно брать пробы крови из яремной вены (непосредственно в шприц со стабилизатором) в количестве, достаточном для определения всех изучавшихся показателей - до 40 мл/кг массы тела, не нарушая гемостазиологических требований [З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998].

Учитывая сезонные сдвиги в гемостазе и его зависимость от метеофакторов

[А.Ш.Бышевский и др., 1986], в каждую серию включали контрольную группу, кроме серий с малыми интервалами между опытами. Кровь брали в шприц из обнаженной овальным разрезом яремной вены у наркотизированных диэтиловым эфиром животных (стабилизатор - 3,8% раствор цитрата натрия, 1:9). Рану закрывали кожным швом.

Пищевой рацион. Рацион питания морских свинок был приближен по составу к такому, который обеспечивает прогрессивный прирост массы тела и увеличивает приплод: сено, свёкла, овес, морковь, печеный хлеб, молоко, дрожжи и водопроводная вода [К.Л.Ковалевский, 1949] – *полноценный рацион*. Содержание витамина С в суточной порции рациона составляло 5.5 мг на кг массы тела, т.е. было близким к расчетной величине, вычисленной по таблицам химического состава пищевых продуктов [К.Л.Ковалевская, 1948, А.И.Штенберг, 1960]. *С-авитаминовый рацион* состоял из тех же продуктов, с инактивированной АК в сене, свекле и моркови (автоклавируемое -120° С, 2 раза по 1 ч), а в молоке - кипячением в течение 1 ч [рекомендации Всесоюзной конференции по витаминам, 1934 г]. После такой обработки витамин С в составе рациона не обнаруживался. Как *С-гиповитаминовый* использовали С-авитаминовый рацион с добавкой 1.1 АК на кг массы тела в сутки. Эта добавка отодвигает на 6-7 дней появление признаков С-витаминовой недостаточности и появление явных признаков скорбута [А.Ш.Бышевский, 1959].

Источниками витамина А и каротина в С-авитаминовом рационе являлись морковь, молоко и сено - эти витамины лишь частично разрушаются при использованной обработке [Б.Г.Савинов, 1948]. Суточную потребность в витаминах группы В, витаминах РР и D обеспечивали высушенные на свету дрожжи - 0.4 г/кг массы в сутки. Источник витамина Е в - овес [П.Х.Попандопуло, 1949]. Аналогичные или близкие рационы использовались и при изучении гемостаза [Г.В.Андреев и др. 1958-1960, 1969: А.Ш.Бышевский, 1967, 1969, 1978; Л.В.Лютова, 1971; Б.А.Кудряшов, 1975].

Итак, АК в дозе 5.5 мг/кг в сутки вводили в контрольных группах. При изучении влияния С-гиповитаминового рациона на гемостаз вводили АК в дозе 1.1 мг/кг в сутки. При изучении эффекта нагрузок витамином С свинкам вводили на фоне полноценного рациона двух-, трёх- или четырехкратные суточные дозы АК (соответственно 11.0, 16.5 или 22.0 мг/кг в сутки). Вводили АК глазной пипеткой в ротовую полость в виде водного раствора (в утренние часы).

Для крыс использовали рацион института питания АМН СССР [Инструкция..., 1952], основная диета которого удовлетворяет потребность крыс в белках, липидах и углеводах, минеральных солях и витаминах: коммерческий казеин - 18% по калорийности, крахмал маисовый - 55% по калорийности, подсолнечное масло - 27% по калорийности. Потребность в минеральных солях обеспечивается солевой смесью. Витамины вводили ежедневно в соответствии с суточной потребностью: А - 200 МЕ, D - 40 МЕ, Е - 1.5 мг, В₁ - 200, В₂ - 250, В₆ - 200, В₁₅ - 1500, РР - 250 мкг и холин - 50 мг на кг массы тела в сутки. Жирорастворимые витамины вносили в порцию подсолнечного масла, туда же вносили навески казеина, крахмала и солевой смеси. Смесь вносили в сосуд с кипящей дистиллированной водой, добавляя в неё предварительно водорастворимые витамины. Образовавшуюся кашу помещали в кормушку. При раздаче пищевой смеси учитывали её фактическое потребление - 100 г/кг массы тела [О.Я.Курцинь, 1952]. Преимущества этого рациона в сравнении со стандартами Дональдсона, характеризующими «идеальных» крыс [Hawk P.W., Ozer B.L., 1954], многократно подтверждены работами из институтов питания АМН СССР и УССР, а также кафедр гигиены питания Киевского и Львовского медицинских институтов (1958-1975 гг.). Так как крысы не нуждаются в поступлении витамина С, в опытах на них изучали эффекты дополнительно-

го введения АК в дозах 11.0, 16.5 или 22.0 мг/кг (и более) в сутки. Значения доз взяты по аналогии с дозой для свинок, так как данных о потребности крыс в витамине С не существует (АК вносили в составе ½ суточной порции рациона в утренние часы, а после её потребления в кормушки помещали остальную часть рациона).

Состояние непрерывного внутрисосудистого свертывания оценивали, определяя в плазме крови продукты, содержание которых позволяет судить об интенсивности ВТФ:

1. Содержание продуктов деградации фибрина (ПДФ) - маркера интенсивности внутрисосудистого свертывания крови и компенсаторной активации фибринолиза [Т.А.Рудницкая, 2003; Wada e.a., 1994] - определяли по описанию [А.Ш.Бышевский и др., 1991].
2. Содержание D-димеров (маркеры ВТФ или компенсаторного фибринолиза [Е.Г.Соболева и др. 2003; Moerloose, Boehlen, 2003]) - с помощью латексной агглютинации с моноклональными антителами к D-димерам (набор «D-dimer test», Roche), результат выражали в мкг/мл эквивалентов фибриногена.
3. Содержание РКМФ, растущее при повышении коагуляционной активности крови [С.Т.Ветриле и др. 2003; Wada e.a., 1996, 2003], определяли количественно - фенантролиновый тест [А.П.Момот и др., 1999].
4. Содержание ф. P₃ в плазме вычисляли по разнице АВР до, и после освобождения плазмы от тромбоцитов – по Rabiner & Groder в описании [В.П.Балуда и др. 1980].
5. Содержание ф. P₄ - по действию прогретой и обедненной тромбоцитами плазмы на тромбин-гепариновое время свертывания субстратной плазмы, степень сокращения времени свертывания - мера активности ф. P₄ [В.П.Балуда и др., 1980]. Высвобождаемые тромбоцитами фф. (P₃ и P₄) - косвенные маркеры ВТФ - их содержание пропорционально уровню в крови тромбина, ускоряющего высвобождение.
6. Количество тромбоцитов в периферической крови определяли, как описано [З.С.Баркаган, А.П. Момот 1998]. Потребность в их определении вызвана тем, что концентрацию тромбоцитов следовало корректировать при оценке агрегации [З.С.Баркаган, 1998; Wada e.a., 2003].
7. Спонтанную агрегацию тромбоцитов определяли по Н.И.Тарасовой в описании [В.П.Балуда и др., 1980].
8. АДФ-индуцированную агрегацию определяли агрегометром “Биола”, конечная концентрация АДФ 0,01 мг/мл [З.А. Габбасов и др., 1989]. Концентрацию тромбоцитов в плазме приводили к 250-500 тыс. клеток/мкл (диапазон, корректный для работы на агрегометре), разбавляя исследуемую плазму (1:2) обедненной тромбоцитами плазмой. Оба вида агрегации также косвенно свидетельствует об уровне тромбинемии, так как тромбин является индуктором образования агрегатов [А.С. Шитикова, 2000].

Результаты определений уровня фф. P₃, P₄, являются одновременно и показателями интенсивности ВТФ и активности тромбоцитов (вместе с показателями СА и АДФ-агрегации).

9. Концентрация в плазме осаждаемого тромбином фибриногена определяли спектрофотометрически [А.Ш.Бышевский, В.Мохнатов, 1969].

Содержание витамина С и витамин С-обеспеченность организма оценивали, определяя количество АК в крови и её поглотительную способность по отношению к АК. Применяли прием, включающий титрование безбелковым фильтратом крови 2,6-дихлорфенолиндофенола [М.М.Эйдельман, Ф.Я.Гордон, 1948, 1951]. Определение способности крови поглощать АК, в отличие от однократного определения в ней количества витамина С, указывает на дефицит витамина С и в тех случаях, когда содержание АК не снижено. Оценка состояния С-витаминной насыщенности путем определения поглотительной способности крови в клинике и эксперименте давала положительные результаты [А.М.Агалецкая, 1948; М.М.Эйдельман и Н.Г.Цариковская, 1955; М.М.Эйдельман, 1956; А.Ш.Бышевский, 1966,1978].

Для оценки ЛПО и АОП определяли: 1. Содержание первичных и вторичных липидпероксидов (ДК и ТБК-продуктов); 2. Период индукции (ПИ); 3. Скорость окисления

(СО). Липиды экстрагировали смесью (1:1 по объему) гептана и изопропилового спирта в 100-кратном избытке. Содержание ДК устанавливали по оптической плотности (λ - 232 нм) гептановой фазы. Содержание продуктов ЛПО, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), определяли в экстракте флуорометрически [В.Н.Ушкалова, 1987]. Интенсивность флуоресценции возбуждения оценивали на флуориметре «Биан 130». В экстрактах же определяли кинетические величины прямого инициированного окисления липидов молекулярным O_2 в присутствии инициатора свободнорадикального окисления динитрилазобисизомасляная кислота. ПИ выражали временем, затрачиваемым на поглощение пробой $25 \text{ мм}^3 O_2$, а СО - углом наклона линейного участка кинетической кривой [С.Н.Ельдецова, 1990].

Модифицировали ЛПО и АОП ацетатом свинца (прооксидант) или димефосфоном (антиоксидант). Ацетат свинца вводили в дозе (50 мг/кг массы тела), которая активизирует ЛПО и снижает АОП за 10-15 дней [В.Г.Соловьев, 1997; М.К.Умутбаева, 2003]. Сравнительно малый эффект объясняется тем, что всасывается лишь около 5% добавленного к рациону ацетата свинца [Материалы ВОЗ: Свинец, 1980]. Димефосфон (ДМ) - 1,1-диметил-3-оксибутирилфосфоновая кислота) - синергист физиологических антиоксидантов - не влияет на гемостаз [С.Л.Галян, 1993; В.Г.Соловьев, 1997], в дозе 1г/кг повышает у животных АОП [С.Н.Ельдецова, 1990]. Однократное введение такой дозы изменяет агрегацию примерно на 50% - т.е. в степени, позволяющей выявлять эффект других антиоксидантов [М.К.Умутбаева, 2005]. Суточные порции прооксиданта и антиоксиданта вводили свинкам орально глазной пипеткой в утренние часы одновременно с АК или без неё, а крысам - с утренней порцией рациона. Определяли ЛПО и АОП в тромбоцитах, которые, выделяя и отмывая их [А.Б.Самаль и др., 1989].

Толерантность к тромбину определяли согласно описанию в патенте [А.Ш.Бышевский и др., 2003]. Результат рассчитывали по формуле, включающей концентрацию ФГ (%) в плазме крови крыс, которым тромбин не вводили (исходный уровень), и уровень ФГ (в %) после введения тромбина (остаточная концентрация):

$$D = \{1 - [(C_k - C_o) : C_k]\} \times 100$$

где D – остаточная концентрация ФГ, %; C_k – его концентрация в плазме крыс, которым тромбин не вводили и другим воздействиям не подвергали (исходный уровень); C_o – концентрация ФГ у крыс, которым ввели тромбин на фоне изучаемого воздействия или без него (остаточная концентрация).

Значение остаточной концентрации ФГ у крыс, которым тромбин ввели без предварительных воздействий, принимали за 100-процентную толерантность к тромбину, и устанавливали степень изменения (в %) толерантности при изучаемом воздействии по формуле: $X\% = (D_o : D_k) \times 100$, где X - толерантность к тромбину в %, D_o – остаточная концентрация ФГ (в %) у группы, подвергавшейся изучаемому воздействию, D_k - остаточная концентрация ФГ (в %) у группы, не подвергавшейся изучаемому воздействию (контрольная группа). Специфичность способа обусловлена тем, что ФГ - основной субстрат тромбина в процессах свертывания [В.П.Балуда и др., 1995; Д.М.Зубаиров, 2000], и тем, что изменение уровня ФГ, реагирующего на тромбин, при экзогенной гипертромбинемии зависит от состояния всех систем, обеспечивающих выживание организма при ускоренном тромбиногенезе [Б.А.Кудряшов, 1975; Д.М.Зубаиров, 2000].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вначале изучили эффективность применения ранее описанного С-гипо- и С-авитаминозного рациона, определяя при их использовании уровень витамина С в крови свинок и её поглотительную способность. Анализ выявил (рис. 1), что рационы отве-

чают задачам работы: 1) при полноценном рационе не изменяется в течение 3-х недель уровень витамина С и С-поглотительная способность крови у свинок, получавших С-гипо- или С-авитаминовый рацион, 2) прогрессивно снижается содержание витамина С в крови и растет её С-поглотительная способность, особенно при С-авитаминовом питании, и это согласуется с результатами осмотра и вскрытия свинок (снижение прироста, затем и убыль массы тела, тусклая шерсть, малая подвижность, снижение аппетита, петехии).

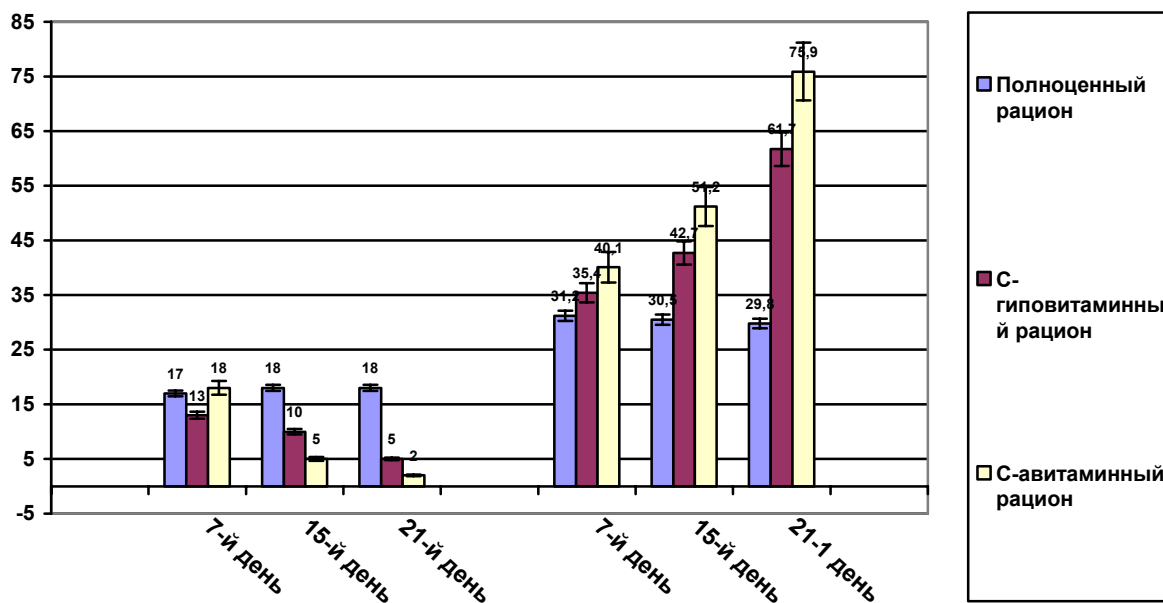


Рисунок 1. Изменения уровня витамина С и С-поглотительной способности крови (абсолютные величины) в зависимости от рациона (уровень в крови витамина С умножен на 10, чтобы поместить его в этой же системе координат)

Следовательно, все разновидности рациона по влиянию на С-витаминную обеспеченность соответствуют задачам работы – можно сопоставлять сдвиги С-гипо- и С-авитаминового рационов с показателями при полноценном рационе. Это позволило провести эксперименты с определением изучавшихся показателей на 7-й, 15-й и 21-й дни содержания свинок на С-гипо и С-авитаминовом рационах.

Оказалось (табл. 1) что к 7, особенно к 15 дню растут активность тромбоцитов (высвобождение фф. P₃ и P₄, СА и АДФ-агрегация) и скорость ВТФ (рост плазменного содержания маркеров). К 21 дню признаки активации тромбоцитов уменьшаются, а содержание прямых маркеров ВТФ увеличивается.

Ускорение ЛПО и снижение АОП, в отличие от сдвигов в гемостазе, нарастало до 21-го дня. Толерантность к тромбину снижалась у свинок до 21-го дня опытов, что более выражено при С-авитаминовом питании.

Таким образом, при дефиците витамина С возникают сдвиги, аналогичные тем, которые выявляли при введении прооксидантов различной природы – тироксина, половых стероидов, свинца [Р.Г.Алборов и др., 2000; И.А.Карпова и др., 2001; П.Я.Шаповалов и др., 2002]. Следовательно, отсутствие или дефицит АК оказывает такое же влияние на гемостаз, как прооксиданты. Это согласуется с представлением об антиоксидантных свойствах АК и подтверждается в наших экспериментах тем, что отсутствие АК в рационе ускоряет ЛПО и снижает АОП пропорционально длительности опытов. При содержании АК в рационе свинок в объеме суточной потребности, интенсивность ЛПО и величина АОП близки к данным, полученным в опытах на животных, синтезирующих витамин С [И.А.Дементьева, 1998; И.В.Ральченко,

1998; Е.А.Матейкович, 2006], и длительно остаются постоянными.

Таблица 1. Содержание маркеров ВТФ, толерантность к тромбину, ЛПО и АОП у свинок на 7, 15 и 21 дни содержания их на С-гипо- или С-авитамином рационе

Показатели	Контроль	Свинки получали С-гиповитаминовый (1-я строка) или С-авитаминовый рацион (2-я строка)		
		7-й день	15-й день	21-й день
P ₃ % (n -8)	80.9±2.0	81.0±2.1 85.2±2.2*	86.1±1.2*+ 92.0±2.2*+	75.0±2.1*+ 72.1±1.9*+
P ₄ , с (n -8)	3.1±0.03	3.6±0.02*+ 4.1±.05*+	4.3±0.03*+ 5.0±0.04*+	2.3±0.02*+ 1.8±0.01*+
ФГ, г/л (n -8)	2.1±0.08	2.1±0.08 1.8±0.05*	1.9±0.02*+ 1.5±0.01*+	1.7±0.02*+ 1.2±0.01*+
ПДФ, мг% (n -8)	14.2±1.0	14.8±1.1 15.9±1.2*+	15.3±1.0*+ 18.7±1.1*+	20.1±1.4*+ 25.3±1.6*+
РКМФ, мкг/мл (n -8)	22.4±1.1	22.9±1.1 25.2±1.3*+	26.7±1.0*+ 31.2±2.1*+	28.8±2.0*+ 35.6±2.5*+
Д-Д, мкг/мл (n -8)	0.19±0.006	0.18±0.007 0.23±0.005*+	0.22±0.007*+ 0.27±0.008*+	0.26.0±0.008*+ 0.33±0.011*+
СА, % (n -8)	4,1±0.04	4,4±0.06 4.8±0.07*+	6.8±0.09*+ 10.1±0.11*+	5.1±0.03*+ 7.0±0.04*+
АДФ-АГ, % (n -8)	52.0±2.1	55.4±2.4 60.1±3.0*+	68.7±3.5*+ 74.9±3.9*+	61.2±2.3*+ 65.1±*+
ДК, А/мг ЛП (n -8)	0.041±0.004	0.048±0.006 0.054±0.004*+	0.063±0.001*+ 0.092±0.001*+	0.078±0.008*+ 0.131±0.011*+
ТБК, ед/мг ЛП (n -8)	0.65±0.051	0.69±0.051 0.76±0.056*+	0.72±0.025*+ 0.83±0.034*+	0.81±0.022*+ 0.94±0.041*+
ПИ, мин/мл (n -8)	45.1±3.1	43.1±3.3 40.1±3.0*+	37.8±1.6*+ 34.6±2.0*+	30.91±1.9*+ 28.2±2.2*+
СО, мм ³ в мин	0.68±0.05	0.71±0.04 0.83±0.05*+	0.80±0.06*+ 0.93±0.08*+	0.93±0.03*+ 1.09±0.02*+
Т. к ТР, % (n -7)	100	95.4±8.6 88.2±7.3*+	88.1±4.4*+ 64.7±3.6*+	75.2±3.1*+ 51.8±2.8*+

Примечания: Т. к ТР – толерантность к тромбину; знак * - достоверное отличие от соответствующей величины в контроле; знак + - достоверное отличие от соответствующей величины в предшествующий срок отбора проб

Ускорение внутрисосудистого свертывания крови (рост уровня маркеров ВТФ) при дефиците витамина С согласуется с обнаруженным снижением уровня ФГ – следствием его ускоренного потребления, и это согласуется с тем, что толерантность к тромбину снижается, а рост уровня маркеров ВТФ выявляется на протяжении трёх недель эксперимента. То, что на 3-й неделе кормления С-гипо- и особенно С-авитамином рационом активность тромбоцитов, вначале повысившаяся, затем снижалась, можно объяснить истощением клеток. Это согласуется с найденной у лиц с диабетом типа I активацией тромбоцитов [И.И.Дедов и др., 1995, 1996], сменяющейся позднее снижением их активности [Р.Г.Алборов, 2003: Ю.В.Нелаева, 2003].

В соответствии с задачами работы не имело смысла продолжать исследования после двух недель пребывания животных на С-гипо- и С-авитамином рационе, т.к. в дальнейшем свинки потребляли корм в уменьшенном количестве (С-гиповитаминоз), в связи с чем на дефицит витамина С наслаиваются последствия алиментарного голодания и, следовательно, недостаточности витаминов других групп.

Установив, что дефицит витамина С вызывает пропорциональные степени недостаточности ускорение ЛПО, снижение АОП, активацию тромбоцитов и ускорение ВТФ уже к концу 1-й и особенно к концу 2-й недели, мы пытались установить порядок появления этих сдвигов. Для этого брали пробы крови чаще между 7 и 15 днями аналогичного опыта. Быстроту увеличения сдвигов оценили, сопоставляя графически значения степени их отклонения от контроля в процентах. На рис. 2 приведены данные, полученные при С-авитаминозе. Здесь видно, что уже на 7-й день наиболее значительно повышено содержание липидпероксидов (ДК и ТБК) и снижен АОП (укорочение ПИ и рост СО), за ними следуют показатели активности тромбоцитов (P₄, СА и АДФ-агрегация). Изменения эти нарастают и в последующем, сохраняя соотношения между величинами, характеризующими эти сдвиги относительно контроля.

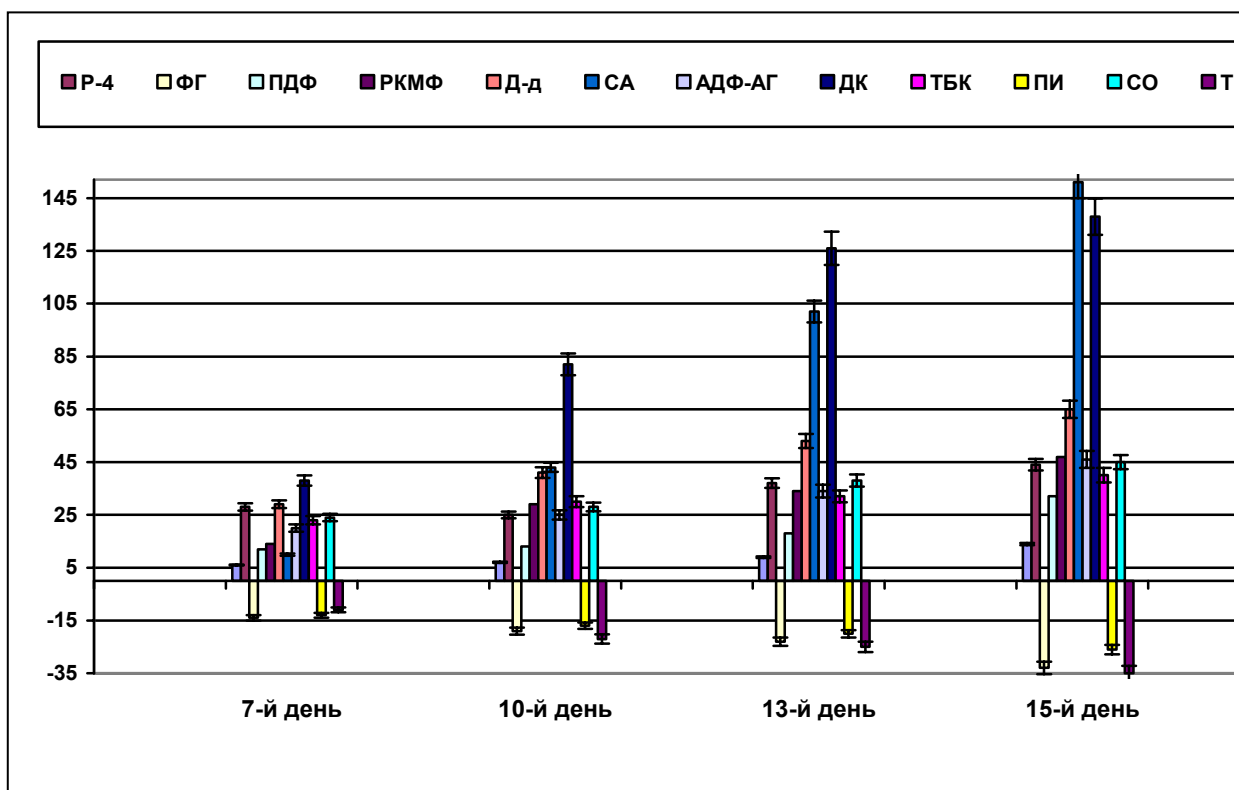


Рисунок 2. Степень изменений (% к контролю - рациону с дозой АК, равной суточной потребности) активности тромбоцитов, маркеров ВТФ, ЛПО, АОП и толерантности к тромбину при С-авитаминозе. Столбцы диаграммы слева направо: ф.ф. P₃, P₄, фибриногеномия (ФГ), ПДФ, РКМФ, D-димеры, спонтанная агрегация, АДФ-агрегация, диеновые конъюгаты (ДК), ТБК-активные продукты, период индукции (ПИ), скорость окисления (СО) и толерантность к тромбину (Т.к ТР)

За этими показателями (по степени их изменения относительно контроля) располагаются величины, которые характеризуют сдвиги содержания маркеров ВТФ.

Степень снижения уровня ФГ, как характеристика его потребления, заметно увеличилась только к концу опыта, когда интенсивность ВТФ уже существенно увеличилась. Мы не приводим данных у свинок с С-гиповитаминозом - они идентичны по направленности найденным у свинок с С-авитаминозом.

Категорически утверждать, что при С-авитаминозе рассматриваемые сдвиги развиваются в предполагаемой последовательности (вначале ЛПО и АОП, затем активация тромбоцитов, затем ускорение ВТФ и падение толерантности к тромбину) нет достаточных оснований, хотя именно в таком порядке протекают сдвиги этих пока-

зателей при активации ЛПО введением прооксидантов. При введении антиоксидантов последовательность изменений такова же, но противоположна по направлению [Э.А.Шабанов, 2000; Е.А.Матейкович, 2006; А.Ш.Бышевский и др., 2006].

Для выявления связей между изменением изучавшихся показателей сопоставлен характер кривых, отражающих сдвиги во времени. На рис. 3 сравнивается динамика изменений (при С-авитаминозе) уровня вторичного липидпероксида (ТБК), ПИ, фф. P₃, P₄, СА и АДФ-агрегации: изменения всех величин в зависимости от длительности опытов линейны - коэффициенты аппроксимации, приведенные для каждого графика, предельно близки единице (от 0.89 до 0.98). Следовательно, зависимость между темпом нарастания скорости ЛПО, а также скорости снижения АОП с одной стороны, и степенью прироста агрегационной активности тромбоцитов и их способности к реакции высвобождения - с другой, близка к линейной. Это не говорит о том, какие из сдвигов инициирующие - ЛПО и АОП, или активность тромбоцитов. Однако, если учитывать, что С-авитаминоз - это устранение из участия в метаболизме одного из антиоксидантов (витамина С), то логично рассматривать ускорение ЛПО и угнетение АОП инициатором последующих сдвигов.

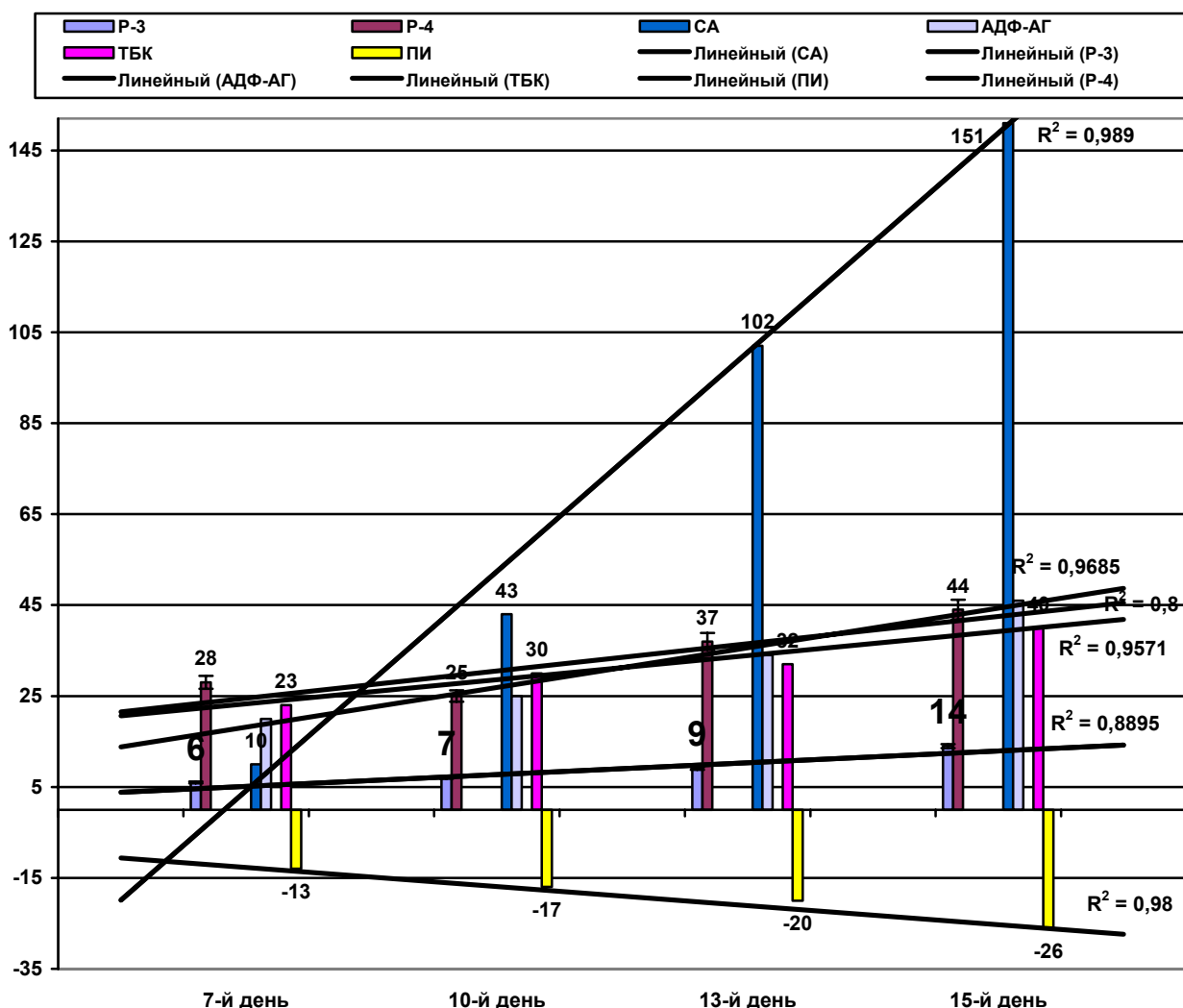


Рисунок 3. Динамика изменения (% к контролю) активности тромбоцитов, ЛПО и АОП при С-авитаминозе. В легенде слева направо фф. P₃, P₄, ФГ, ПДФ, РКМФ, D-димеры, спонтанная агрегация, АДФ-агрегация, диеновые конъюгаты (ДК), ТБК-активные продукты, период индукции (ПИ), скорость окисления (СО) и толерантность к тромбину (Т.к ТР)

О такой же последовательности появления сдвигов свидетельствует и то, что инфузия тромбоцитов от реципиентов (крысы с гипероксидацией) нормальным крысам мало изменяет у них ЛПО [Р.Г.Алборов, 2006]. Видимо, инициатор изменения активности тромбоцитов при дефиците витамина С - ускорение ЛПО. При этом степень активации тромбоцитов, особенно СА, несоразмерна степени активации ЛПО. Так, к 15-дню ЛПО, оцениваемая по уровню ТБК-продуктов, ускорилась на 40%, а СА на 151%. Однако, если учесть, что уровень ДК к тому же сроку увеличился на 138%, то вопрос о несоразмерности отпадает. Следует принять во внимание и то, что активированные хотя бы в малой степени тромбоциты аутокаталитически наращивают свою активность через ускорение тромбогенеза, а тромбин активирует тромбоциты [Д.М.Зубаиров, 2000; А.С.Шитикова, 2000; Gawaz M.P., 2001].

Сопоставляя у свинок динамику изменений активности тромбоцитов с изменением интенсивности ВТФ (при кормлении С-авитаминозным рационом), мы нашли следующее. Сравнение графиков, отражающих сдвиги показателей активности тромбоцитов (содержание фф. P₃, P₄, СА и АДФ-агрегация), с графиками изменения уровня маркеров ВТФ (ПДФ, РКМФ и D-димеры), обнаруживает следующее (рис. 4).

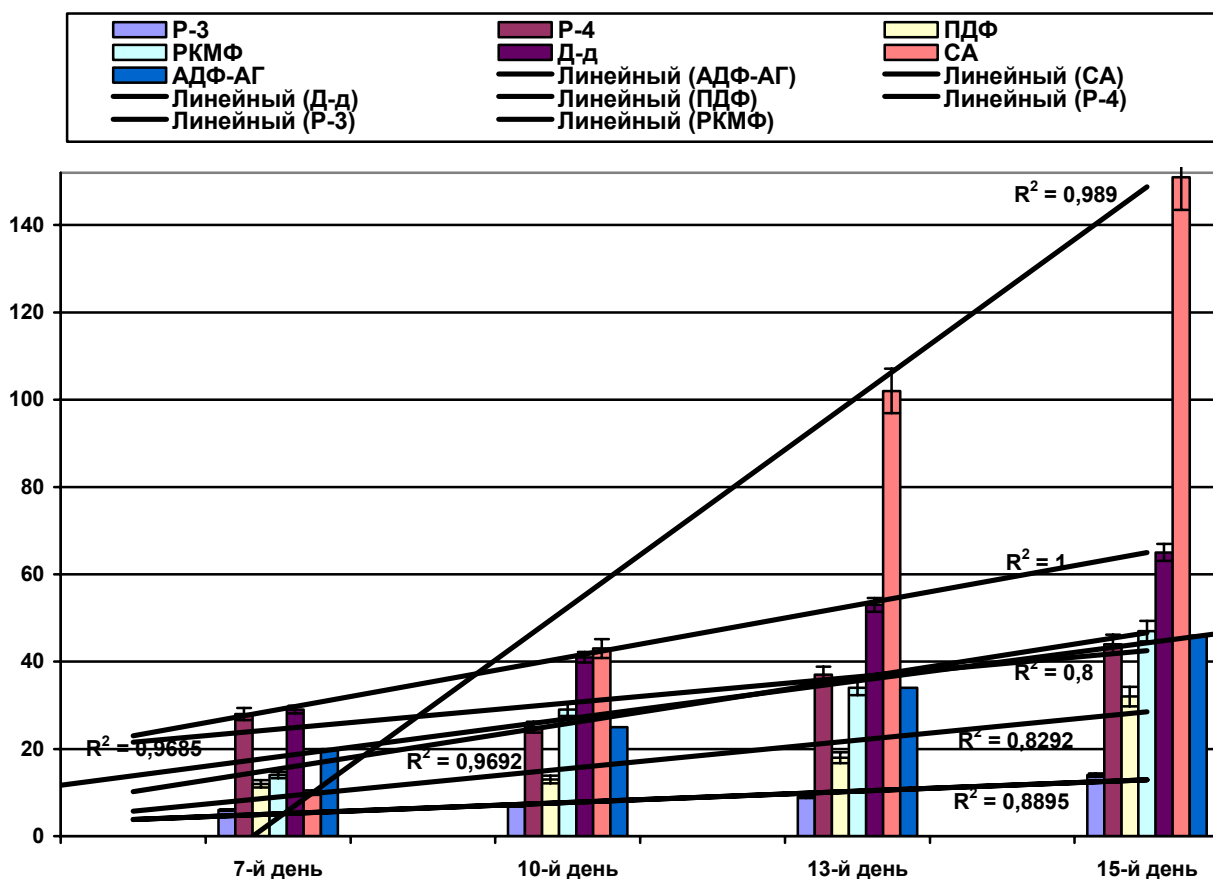


Рисунок 4. Динамика изменения (% к контролю) активности тромбоцитов, и содержания маркеров ВТФ при содержании свинок на С-авитаминозном рационе питания.

Содержание маркеров ВТФ изменяется параллельно росту активности тромбоцитов, причем в период наблюдения прирост уровня маркеров ВТФ происходит линейно. Особенно это относится к D-димерам – коэффициент аппроксимации соответствующего тренда равен единице, т.е. имеет место абсолютная «линейность» сдвига. В малой степени отклоняются от единицы и коэффициенты аппроксимации трендов, характеризующих динамику изменения содержания двух других маркеров ВТФ – ПДФ и РКМФ (они равны 0.892 и 0.968 соответственно).

На рис. 5 представлены графики, характеризующую динамику изменения во времени уровня маркеров ВТФ и толерантности к тромбину.

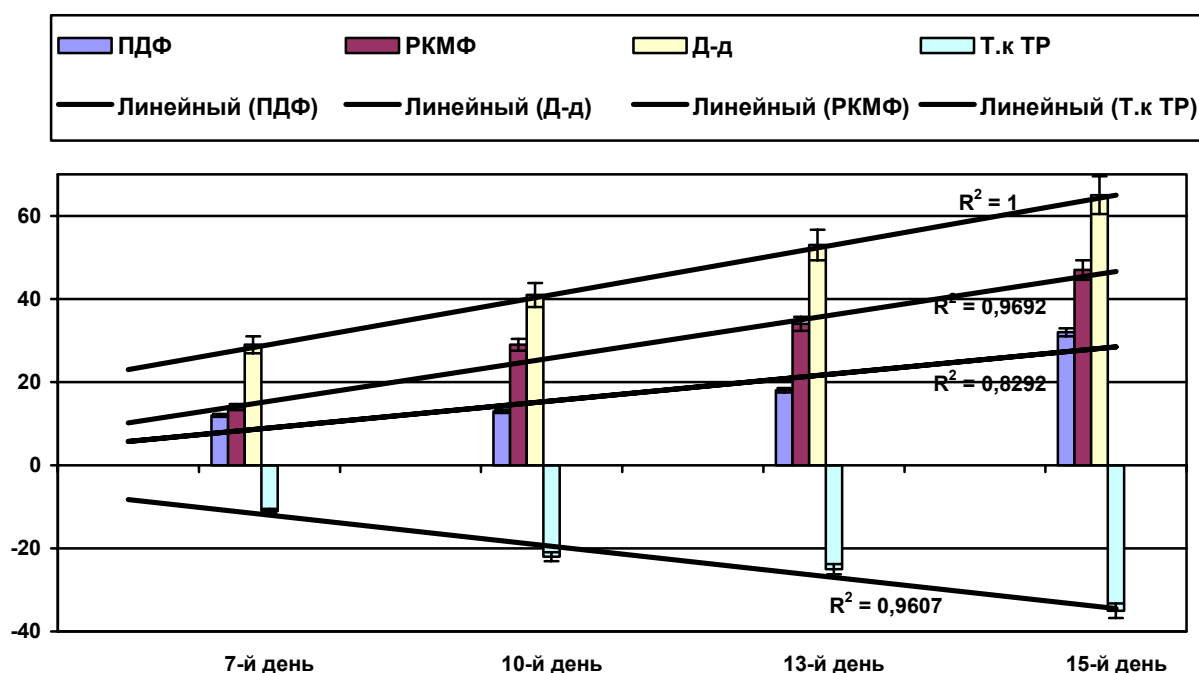


Рисунок 5. Динамика изменения (в % к контролю) содержания маркеров ВТФ и толерантности к тромбину (Т.к ТР) при С-авитаминозе.

Здесь видно, что степень изменений толерантности к тромбину линейно снижается с ростом уровня маркеров ВТФ (такое же отношение «*толерантность к тромбину/маркеры*» распространяется и на остальные маркеры ВТФ).

Обсуждение опытов, в которых изучали, как меняется гемостаз и ЛПО при С-авитаминозе, можно закончить следующим: **1.** На ранних этапах скормливания С-авитаминозного рациона несинтезирующим его животным наряду с ускорением ЛПО и снижением АОП увеличивается агрегационная и «высвобождающая» способность тромбоцитов; растет плазменное содержание маркеров ВТФ, т.е. интенсивность непрерывного внутрисосудистого свертывания крови, и одновременно падает толерантность к тромбину; **2.** При развитии С-дефицита (21-й день при С-гипо- и особенно С-авитаминожном рационе) активность тромбоцитов падает в сравнении с обнаруживающейся к концу 2-й недели наблюдений; усугубляется и снижение толерантности к тромбину; **3.** Ещё более увеличивается содержания маркеров ВТФ и при появлении явных признаков скорбута; **4.** Появляющиеся уже к 7-му дню признаки активации ЛПО и снижения АОП усугубляются в течение всего периода витамин С-дефицита.

В следующей серии опытов одна группа свинок получала АК в составе С-авитаминожного рациона в дозе, равной суточной потребности, другая группа получала ДМ в дозе, предупреждающей гипероксидацию (1 г/кг). Результаты опытов (табл. 2) показывают, что введение АК свинкам, в дозе, равной суточной потребности, практически предупредило все гемостазиологические изменения. Это позволило считать, что они (изменения) вызваны дефицитом витамина С.

В дозе, поддерживающей обычную для данных животных, интенсивность процессов ЛПО и величину АОП при С-авитаминожном питании, ДМ устранил сдвиги ЛПО и АОП, возникавшие у свинок в этих условиях на 7 и 15 дни С-авитаминожного питания, и предупредил появление гемостазиологических сдвигов.

На 21-й день сдвиги активности тромбоцитов оказались менее выражены, чем на

15-й день, но выше, чем в контроле. Уровень маркеров ВТФ, напротив, стал ещё значительнее, заметнее снизилась и толерантность к тромбину.

В целом в конце 3-й недели у свинок, получавших АК или ДФ в составе С-авитаминового рациона, изменения (в сравнении с С-авитаминовым) сгладились лишь отчасти (некоторое ограничение уровня липидпероксидов, сдвигов ПИ и СО).

Таблица 2. Степень отклонения (в % к контролю) показателей активности тромбоцитов, содержания маркеров ВТФ, ЛПО и АОП, и толерантности к тромбину у свинок на 7, 15-й и 21-й дни содержания их на С-авитаминовом рационе, том же рационе с добавкой АК, том же рационе с добавкой димефосфона

Показатели	Контроль (АК 5.5. мг/кг/сут)	-1-я строка - свинки получали С-авитаминовый рацион -2-я строка - тот же рацион+ АК (5.5 мг/кг/сут) -3-я строка - тот же рацион+димефосфон (1 г/кг/сут)		
		7-й день	15-й день	21-й день
P ₃ % (n -8)	79.7±1.8	7	8	14
		3	2	0
		0	0	10
P ₄ , с (n -8)	3.2±0.02	16	53	44
		1	9	9
		1	16	34
ФГ, г/л (n -8)	2.2±0.06	4	-23	-41
		1	-14	-14
		4	-9	-23
ПДФ, мг% (n -8)	14.2±1.1	7	38	200
		0	6	0
		2	4	40
РКМФ, мкг/мл (n -8)	22.4±1.1	4	43	72
		-4	0	7
		0	0	32
D-Д, мкг/мл (n -8)	0.20±0.006	40	65	90
		15	10	15
		5	5	45
СА, % (n -8)	4,0±0.03	20	72	40
		5	10	-5
		7	2	27
АДФ-АГ, % (n -8)	52.0±2.1	7	32	23
		2	4	4
		0	0	15
ДК, А/мг ЛП (n -8)	0.044±0.003	14	45	75
		0	102	77
		-4	0	61
ТБК, ед/мг ЛП (n -8)	0.66±0.050	12	11	23
		0	-3	-3
		-3	0	15
ПИ, мин/мл (n -8)	45.4±2.1	-10	-17	-34
		3	-1	4
		0	0	-7
СО, мм ³ в мин	0.70±0.04	13	16	31
		4	3	36
		1	1	18
Т. к ТР, % (n -7)	100	-9	-15	-32
		0	0	-5
		0	-2	-11

Обозначения: знак «-» - показатель уменьшен относительно контроля

Это видно из диаграмм (рис. 6), характеризующих динамику СА, уровня D-димеров, ПИ и и толерантности к тромбину у свинок, получавших С-авитаминовый рацион без добавок, тот же рацион+АК или тот же рацион+ДМ. Так, у свинок, получавших С-авитаминовый рацион, СА увеличена на 7 и 15 дни, снижаясь к 21 дню, но оставаясь выше исходного значения. Содержание **D-димеров** у них растет до конца наблюдений, **ПИ** сокращается к 7 и 15 дням, отчасти восстанавливаясь к 21 дню, а **толерантность к тромбину** продолжает падать с увеличением длительности опыта.

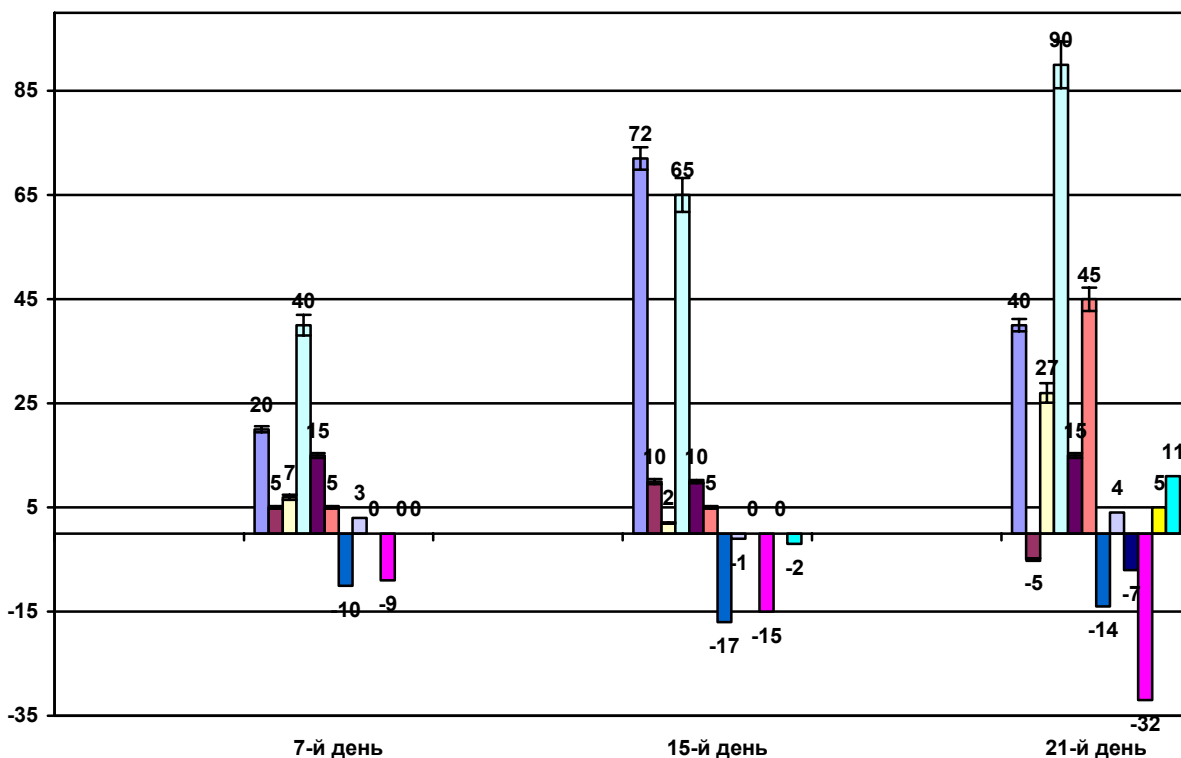


Рисунок 6. Изменения (% к контролю) СА, содержания D-димеров, ПИ и толерантности к тромбину при С-авитаминовом питании свинок, том же питании+АК и том же питании+ДМ (слева направо в пределах всех сроков отбора проб)

У свинок, получавших АК в дозе, равной суточной потребности, СА не меняется в ходе опытов. Уровень **D-димеров** слегка увеличен во все периоды опыта, но в меньшей мере, чем у свинок С-авитаминозной группы. **ПИ** и **толерантность к тромбину** у них практически не изменены. У свинок, получавших с рационом ДМ, СА немного увеличена на 7 и 15 дни, как у свинок, получавших АК, а к 21 дню - увеличена на 27%. Уровень D-димеров не изменился на 7 и 15 дни, но увеличился к 21 дню (на 45%). **ПИ** не изменен на 7-й и 15-й дни, сократился к 21 дню. Толерантность к тромбину не изменена на 1 и 2 этапах опыта и снижена на 11% к концу наблюдений, т.е. меньше, чем при С-авитаминовом питании без добавок. Не представленные здесь показатели активности тромбоцитов, интенсивности ВТФ и ЛПО изменялись аналогично приведенным на рис. 6.

Такое развитие событий позволяет предполагать, что инициатором сдвигов в ранние сроки дефицита витамина С служит ускорение ЛПО и снижение АОП, а следствие - активация гемостаза. При выраженной картине скорбута (21-й день), когда антиоксидантный эффект АК или ДМ ограничивают изменения ЛПО и, особенно, АОП, тромбоциты, сохраняющие повышенную активность, обеспечивают дальнейший рост содержания маркеров ВТФ.

Поэтому активацию тромбоцитов и связанное с этим ускорение ВТФ при длительном дефиците витамина С, вызвавшем скорбут, нельзя объяснить только исключением из оборота одного из антиоксидантов, каким является АК. Об этом свидетельствует тот факт, что подмена АК другим антиоксидантом (ДМ) не купирует полностью гемостатических сдвигов, хотя и ограничивает дальнейшую активацию ЛПО и снижение АОП. Данные литературы позволяют объяснять неспособность ДМ полностью устранить сдвиги в гемостазе нарушением функции эндотелия - сосудистого компонента гемостаза [А.С.Шитикова, 2000; Gawaz, 2001]. Так, в частности, известно, что уже при умеренной гомоцистеинемии (гомоцистеин в малых количествах – нормальный компонент крови) усиливаются адгезивные свойства эндотелия, а введение витамина С блокирует этот эффект [Nappo. e.a., 1999; Labinjoh. e.a., 2001; Labinjoh e.a., 2001]. Известно и то, что нагрузки АК, не влияющие на уровни активатора и ингибитора профибринолизина ткани, ФГ, ф. VIII:ФВ и вязкости крови при нормальной обеспеченности витамином С, на фоне его дефицита повышают уровень ф. VIII:ФВ [Tofler. e.a., 2000]. Обнаружено, что введение АК снижает активность эндотелия, уменьшая скорость ЛПО, и снижает активность фибринолиза на фоне С-авитаминоза, в то время как у лиц с нормальной обеспеченностью витамином С этого не наблюдают [Antoniades e.a., 2003; Tomiyama. e.a., 2003]. АК усиливает эффект вазодилататоров [Pellegrini. e.a., 2004], а изменения просвета сосудов не может не сказаться на свертывающей активности крови.

Установлено, что АК ограничивает и даже предотвращает активацию тромбоцитов, благодаря способности увеличивать высвобождение полиморфноядерными лейкоцитами оксида азота - соединения с антиагрегантной активностью [Raghavan e.a., 2003]. Наконец, доказана роль витамина С в формировании субэндотелия путем участия в гидроксировании пролина в молекуле преколлагена, что необходимо для его трансформации в коллаген [П.Н.Шараев, 2004; В.П.Мищенко и др., 2005; Е.Б.Меньщикова и др., 2006].

Это позволяет заключить, что значение витамина С в процессах свертывания крови обусловлено не только антиоксидантными, но и его специфическими свойствами. Поэтому ДМ, как антиоксидант, поддерживающий эффекты физиологических антиоксидантов, не в состоянии полностью предупредить те гемостазиологические изменения, которые возникают при С-авитаминозе – он устраняет только ту их часть, которая связана с активацией ЛПО и снижением АОП в тромбоцитах – клетках в существенной мере определяющих состояние гемостаза как многокомпонентной системы.

Наши данные – дополнительное свидетельство того, что гемостазиологические сдвиги при дефиците витамина С связаны со снижением АОП и с активацией ЛПО, но не только с этим, но также и с исключением при С-авитаминозе некоторых специфических функций витамина, обеспечивающих его косвенное участие в гемостазе.

Далее, изучая влияние АК в дозах, существенно превышающих суточную потребность, мы нашли, следующее.

Двух- и трёхкратный избыток АК у свинок несинтезирующих витамин С и получающих рацион, включающий АК в соответствии с суточной потребностью, в малой степени тормозит ЛПО и повышает АОП, и это сопровождается столь же небольшим замедлением ВТФ, снижением агрегационной и «высвобождающей» способности тромбоцитов, не отражаясь на толерантности к тромбину (наблюдается лишь тенденция к её росту, не подтверждаемая статистически). Четырёхкратный избыток АК на фоне полноценного рациона у свинок сопровождается слабой активацией ЛПО и малым снижением АОП к концу 1-й и 2-й недель, однако, на 21-й день эти измене-

ния привели ещё и к небольшому увеличению скорости ВТФ, а также к повышению активности тромбоцитов и снижению толерантности к тромбину (рис. 7).

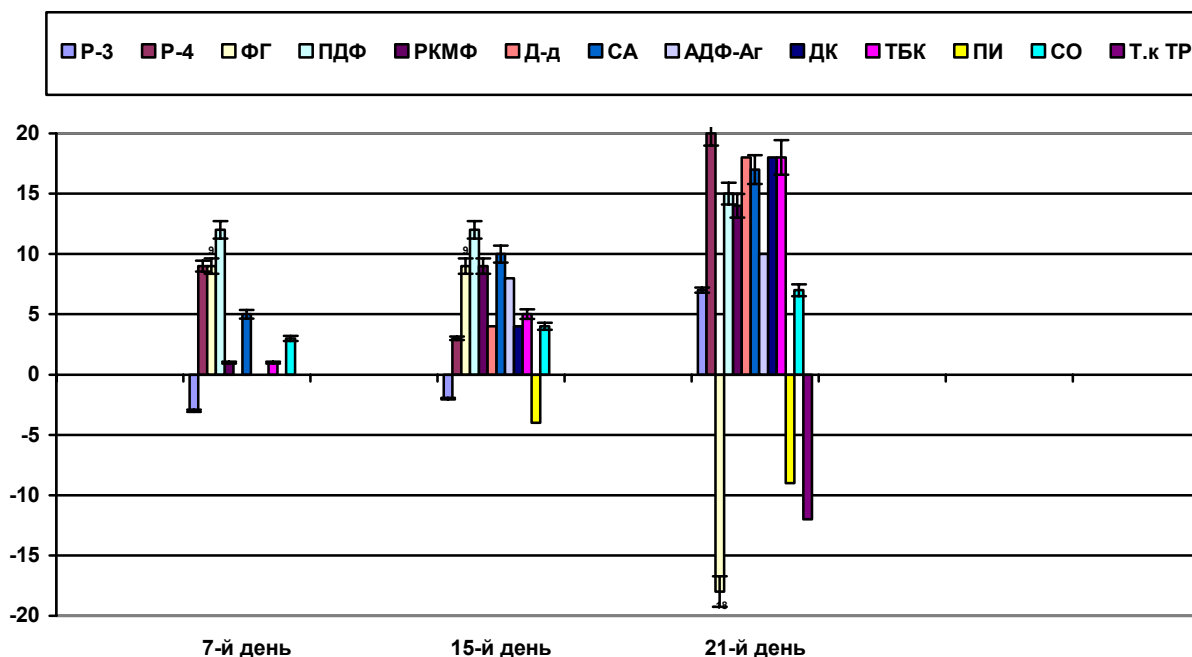


Рисунок 7. Динамика изменения (% к значениям при полноценном питании) активности тромбоцитов, уровня маркеров ВТФ, интенсивности ЛПО-АОП и толерантности к тромбину при питании рационом с АК в дозе, четырехкратно превышающей суточную потребность

Здесь видно следующее: **1.** Невелики сдвиги, отражающие тенденцию к активации (или к угнетению) тромбоцитов, уровня ВТФ, ЛПО и АОП; **2.** Четко выражены сдвиги, отражающие ускорение ЛПО, снижение АОП, активацию тромбоцитов, рост содержания маркеров ВТФ и снижение толерантности к тромбину на 21-й день. Этот, кажущийся неожиданным, эффект можно рассматривать как причину снижения толерантности к тромбину у свинок, получавших четырёхкратную дозу АК.

Активацию ЛПО и снижение АОП при значительном избытке АК можно считать следствием проявления прооксидантных свойств больших доз АК, которая может вести себя как активатор свободнорадикальных процессов [Е.Б.Меньщикова и др., 2006; Cohen A. Schwarz E., 1981; Burton G. e.a., 1990].

Это наблюдение подтверждает также и то, что эффекты АК на гемостаз обусловлены их влиянием на ЛПО, как установлено относительно витаминов А, Е и Р в экспериментах, позволивших сопоставить эффекты этих витаминов с эффектами антиоксиданта без витаминных свойств [Е.А.Матейкович, 2006; С.В.Миневцев, 2006].

У крыс, синтезирующих витамин С эффекты АК на тромбоциты, ВТФ, ЛПО, АОП и на толерантность к тромбину имели ту же направленность и заметно не отличались по степени (установлено нами при использовании дополнительных доз АК на фоне полноценных для обоих видов рационов питания). Это видно при сопоставлении данных в таблицах 3 и 4). Вместе с тем, есть и заметное отличие: у свинок АК в дозе, превышающая суточную потребность в 2 и 3 раза, повысила толерантность тромбину на 9-10% в виде тенденции, о которой можно говорить потому, что во все периоды опыта есть прирост толерантности, не подтверждаемый статистически. У крыс в те же сроки толерантность при такой дозе АК выросла до 110, 121 и 127%. Видимо, у синтезирующих витамин С животных эти дозы АК обуславливают достаточное повышение насыщенности организма витамином С. Доза, превышающая суточную потребность в 4 раза, вызвала у свинок слабую тенденции к снижению толерантности к

тромбину к 7 и 15 дням, реализовавшаяся к 21 дню (достоверное снижение на 12%). У крыс эта доза снизила толерантность уже к 15 дню (на 8.7%) и на 12.7% - к 21 дню. Видимо, в этом случае проявилась прооксидантная способность АК, к избытку которой крысы как животные, синтезирующие витамин С, более чувствительны.

Таблица 3. Содержание маркеров ВТФ, толерантность к тромбину, ЛПО и АОП у свинок содержащихся на полноценном рационе (контроль) или том же рационе с избытком АК

Показатели	Контроль (полноценный рацион - 5.5 мг/кг АК в сут)	-1-я строка - свинки получали тот же рацион+АК (11.1мг/кг/сут) - 2-я строка - тот же рацион+ АК (16.5 мг/кг/сут) - 3-я строка - тот же рацион+АК (22 мг/кг/сут)		
		7-й день	15-й день	21-й день
P ₃ % (n -8)	79.6±1.2	81.0±1.5 78.3±1.1 77.2±0.8.	77.3±1.4 75.0±2.1* 78.2±1.2	77.9±2.1 74.1±1.3* 85.4±1.7*+
P ₄ , с (n -8)	3.4±0.02	3.6±0.02 3.3±0.03 3.7±0.09	3.5±0.04 3.1±0.02*+ 3.5±0.04	3.6±0.02 3.2±0.04+ 4.1±0.02*+
ФГ, г/л (n -8)	2.2±0.07	2.1±0.06 2.2±0.05 2.4±0.09	1.9±0.04 2.1±0.04 2.4±0.06	1.9±0.02 2.0±0.03 1.8±0.061*
ПДФ, мг% (n -8)	14.2±1.1	15.4±0.5 14.0±0.5 15.9±0.5	15.0±1.2 12.0±0.7*+ 15.9±0.07	15.0±1.6 11.4±1.01*+ 16.4±1.0*+
РКМФ, мкг/мл (n -8)	23.0±1.0	24.7±1.0 22.6±0.8 22.4±1.1	22.4±1.0 19.1±1.1*+ 25.1±1.0	22.8±1.6 20.3±1.1*+ 26.3±1.0*+
Д-Д, мкг/мл (n -8)	0.22±0.007	0.24±0.008 0.23±0.008 0.22±0.006	0.23±0.007 0.18±0.006*+ 0.23±0.005	0.23±0.010 0.19±0.010*+ 0.26±0.014*+
СА, % (n -8)	4,0±0.03	4,3±0.06 4,1±0.05 4,2±0.04	4,4±0.09 3,8±0.04+ 4,6±0.04	4,1±0.04 3,7±0.02*+ 4,7±0.04*+
АДФ-АГ, % (n -8)	52.0±2.1	52.7±2.3 53.4±3.3 52.2±1.7	51.9±3.1 48.0±1.6 56.1±2.7	54.1±2.5 48.0±1.7*+ 57.2±1.2*+
ДК, А/мг ЛП (n -8)	0.044±0.004	0.047±0.005 0.043±0.006 0.044±0.004	0.043±0.012 0.038±0.011*+ 0.046±0.012	0.046±0.004 0.040±0.002*+ 0.052±0.003*+
ТБК, ед/мг ЛП (n -8)	0.65±0.043	0.62±0.048 0.64±0.054 0.65±0.036	0.63±0.029 0.57±0.019*+ 0.68±0.057	0.61±0.025 0.57±0.03*+ 0.77±0.050*+
ПИ, мин/мл (n -8)	45.1±2.0	44.7±3.1 46.0±3.7 45.7±2.1	47.2±2.5 43.1±0.8*+ 43.1±2.1	47.0±1.4 48.9±0.8*+ 41.0±1.2*+
СО, мм ³ в мин (n -8)	0.68±0.03	0.69±0.04 0.71±0.08 0.70±0.07	0.67±0.11 0.53±0.03*+ 0.71±0.05	0.64±0.01 0.61±0.02*+ 0.73±0.01*+
Т. к ТР, % (n -7)	100	109±7.9 112±8.3 98.6±4.5	110±8.9 113±9.8 98.6±5.1	108±8.9 106±9.7 88.1±3.1*+

Примечания: * - достоверное отличие от той же величины в контроле; + - достоверное отличие от той же величины у свинок, получавших АК в 2-кратной дозе

Таблица 4. Содержание маркеров ВТФ, толерантность к тромбину, ЛПО и АОП у крыс, содержащихся на казеиново-крахмальном рационе, при дополнительном введении АК в дозах 11.0, 16.5 и 22.0 мг/кг/сут (соответственно 1-я, 2-я и 3-я строки)

Показатели	Контроль крысы получали С-авитаминовый рацион	-1-я строка - тот же рацион+ АК (11.1 мг/кг/сут), -2-я строка тот же рацион+ АК (16.5 мг/кг/сут) -3-я строка – тот же рацион+АК (22.0 мг/кг/сут)		
		7-й день	15-й день	21-й день
P ₃ % (n -8)	69.1±1.0	71.2±1.4 70.0±1.2 70.2±1.2.	67.2±1.1 64.1±0.7* 67.0±0.9	66.9±2.0* 61.5±1.1* 76.0±1.2*
P ₄ , с (n -8)	3.4±0.02	3.6±0.03 3.3±0.03 3.5±0.09	3.1±0.03* 3.0±0.02* 3.5±0.04	3.0±0.03* 3.0±0.04* 4.0±0.01*
ФГ, г/л (n -8)	2.3±0.06	2.3±0.06 2.2±0.05 2.5±0.09*	2.4±0.02 2.2±0.03 2.0±0.07	2.1±0.03 2.0±0.04 1.7±0.063*
ПДФ, мг% (n -8)	14.9±1.0	15.1±0.6 14.8±0.4 14.9±0.5	15.0±1.1 11.0±0.4* 15.4±0.06	13.4±1.1* 10.4±0.8* 16.2±0.9
РКМФ, мкг/мл (n -8)	23.9±0.8	23.6±0.9 23.7±0.9 25.0±1.4	22.0±0.6 19.2±0.9* 24.1±1.0	21.0±1.1* 18.6±1.0* 24.9±1.1
D-Д, мкг/мл (n -8)	0.18±0.006	0.19±0.007 0.21±0.011 0.21±0.012	0.16±0.007 0.14±0.005* 0.20±0.009	0.14±0.008* 0.13±0.011* 0.23±0.012*
СА, % (n -8)	4,2±0.04	4,4±0.03 4,2±0.08 4,4±0.07	3,7±0.05* 3,3±0.03* 4,3±0.05	3,4±0.04* 3,2±0.02* 4,6±0.08*
АДФ-АГ, % (n -8)	51.0±1.9	51.4±1.9 53.7±3.2 54.1±2.8	46.1±1.1* 43.0±1.0* 55.0±2.2	44.2±2.1* 41.4±1.3* 54.4±1.2*
ДК, А/мг ЛП (n -8)	0.040±0.001	0.036±0.004* 0.033±0.002* 0.041±0.004	0.033±0.010* 0.027±0.011* 0.043±0.012	0.030±0.003* 0.028±0.002* 0.047±0.001*
ТБК, ед/мг ЛП (n -8)	0.60±0.041	0.58±0.041* 0.54±0.054* 0.65±0.034	0.51±0.022* 0.46±0.011* 0.63±0.051	0.48±0.021* 0.44±0.02* 0.69±0.033*
ПИ, мин/мл (n -8)	40.1±1.1	44.5±0.9* 46.8±0.7* 40.7±1.1	47.3±2.1* 48.5±0.8* 39.4±1.8	49.2±0.9* 51.2±0.7* 37.1±0.6*
СО, мм ³ в мин	0.61±0.02	0.57±0.01* 0.56±0.02* 0.63±0.08	0.54±0.13* 0.52±0.08* 0.63±0.08	0.50±0.01* 0.48±0.01* 0.67±0.02*
Т. к ТР, % (n -7)	100	110±2.1* 113±1.9* 99.5±2.5	121±3.9* 123±6.4* 91.3±4.1*	127±5.1* 126±3.7* 87.3±4.8*

Примечания: Т. к ТР – толерантность к тромбину; * - достоверное отличие от соответствующей величины в контроле

Чтобы уточнить, ведет ли себя АК в больших дозах как прооксидант, мы изучили в опытах на крысах эффекты восьмикратной (против суточной потребности) дозы – 40.0 мг/кг/сут, и подтвердили это. На рис. 8 видно, что уже на 7-й день введения АК в этой дозе повысились агрегационная и «высвобождающая» активность тромбоцитов, уровень маркеров ВТФ, уровень ДК и ТБК, СО и снизился ПИ, т.е. активирова-

лась ЛПО, снизился АОП, и ускорилось внутрисосудистое свертывание крови. Видно и то, что с увеличением сроков введения этой дозы АК все сдвиги усиливаются при одновременном снижении толерантности к тромбину. Примечательно, что на 7-й и 15-й дни введения АК в восьмикратной дозе содержание ФГ выше контрольного значения, и это согласуется с данными о способности витамина С ускорять биосинтез белков [Б.А.Лавров, 1951; В.Г.Ребров, О.А.Громов, 2003]. Однако к 21-му дню фибриногенемия снизилась, что можно рассматривать как признак ускоренного потребления ФГ в связи с активацией внутрисосудистого свертывания крови. Кроме этого к 7-му дню была ускорена ЛПО и чуть снижен АОП.

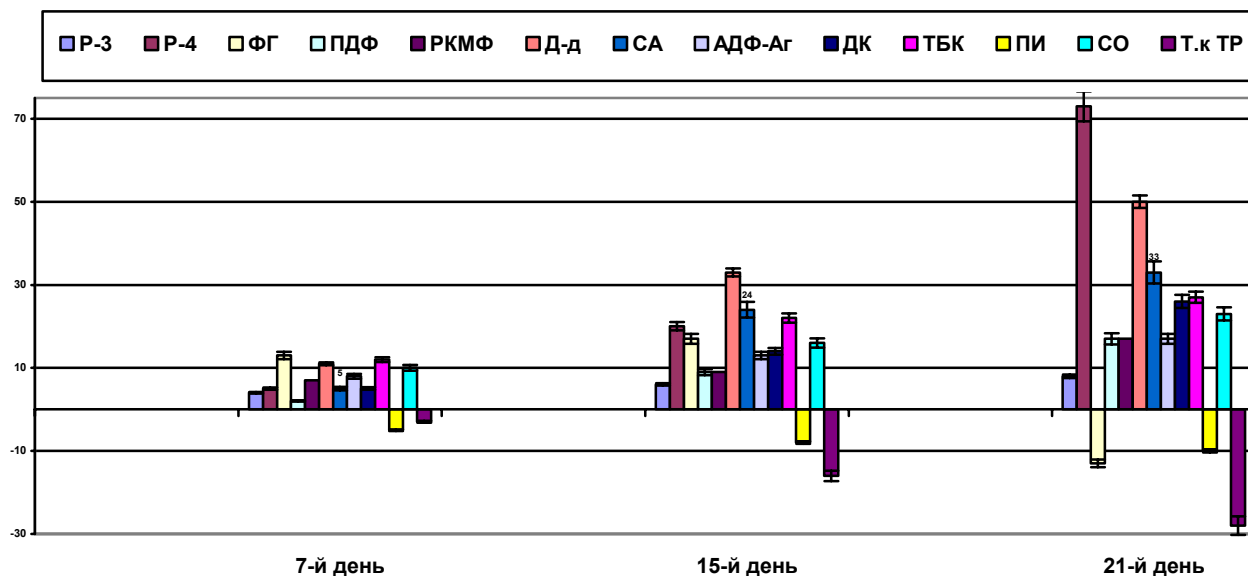


Рисунок 8. Динамика изменения (% к значению при полноценном питании) активности тромбоцитов, содержания маркеров ВТФ, интенсивности ЛПО-АОП и толерантности к тромбину у крыс, получавших АК в дозе, восьмикратно превышающей суточную потребность

О том же свидетельствует и заметный рост содержания D-димеров – продуктов фибринолиза, ускоряющегося в ответ на усиленное (в конце наблюдений) фибринообразование [З.С.Баркаган, 1978; А.Ш.Бышевский, 1990; Д.М.Зубаиров, 2000].

Следовательно, в избытке витамин С обнаруживает способность прооксиданта, и это может усиливаться с увеличением дозы (другие прооксиданты, например, свинец или тирозин, дозозависимо активируют ЛПО и снижают АОП [И.А.Аптекарь, 2003]).

К 15-му дню увеличился уровень фф. P₃ и P₄, заметнее повысилась СА, АДФ-агрегация и плазменное содержание маркеров ВТФ. Заметнее увеличилась к этому сроку скорость ЛПО, значительно стала и степень снижения АОП. К концу наблюдений (21-й день) все рассмотренные изменения усугубились.

Таким образом, выяснилось, что большие дозы АК снижают АОП в тромбоцитах, ускоряют в них ЛПО и повышают агрегационную и «высвобождающую» активности, и, видимо, в связи с этим, ускоряют ВТФ. Подтверждается это ещё и тем, что толерантность к тромбину при введении АК в высокой дозе уже через неделю сопровождается тенденцией к снижению толерантности к тромбину, которое становится достоверным к 15 дню, усиливаясь (на 28.9%) к 21 дню.

Итак, при С-гипо-, особенно при С-авитаминозе ускоряется ЛПО и снижается АОП. В связи с этим мы пытались выяснить, как влияет АК на гемостаз при гипероксидации или торможении ЛПО у синтезирующих и не синтезирующих витамин С животных. С этой целью изучили влияние АК на уровень маркеров ВТФ, ак-

тивность тромбоцитов и толерантность к тромбину при ускорении и угнетении ЛПО у морских свинок и крыс. Это было необходимо, так как известна способность некоторых витаминов-антиоксидантов ограничивать сдвиги гемостаза заметнее при гипероксидации [И.В.Ральченко, 1998; С.В.Миневцев, 2005; П.Я.Шаповалов, 2005]. Результаты экспериментов представлены в виде интенсивных величин табл. 5 и 6.

Таблица 5. Степень сдвигов активности тромбоцитов, содержания маркеров ВТФ, ЛО, АОП и толерантности к тромбину у свинок, получавших С-авитаминовый рацион, или тот же рацион+АК (5.5 мг/кг/сут), или тот же рацион+ АК+свинец (50 мг/кг/сут), или тот же рацион+ АК+димефосфон (1 г/кг/сут).

Показатели	Контроль (С-авитаминовый рацион), абсолютные величины		1-я строка - свинки получали С-авитаминовый рацион+АК (5.5мг/кг); 2-я строка - тот же рацион+АК+свинец ; 3-я строка - тот же рацион+АК+димефосфон	
	7-й день	15-й день	7-й день	15-й день
P ₃ % (n -6)	85.2±1.4	95.2±1.7*	-35* 9*+ -50*+»	-40* 14*+ -49*+»
P ₄ , с (n -6)	3.6±0.02	4.8±0.04*	-5* 8* -17*+»	-3* 20*+ -25*+»
ПДФ, мг% (n -6)	16.4±0.3	19.5±1.0*	-13* 69*+ -24*+»	-12* 79*+ -16.9*+»
РКМФ, мкг/мл (n -6)	24.6±1.1	32.3±0.8*	-10* 42*+ -26*+»	-34* 32*+ -47*+»
D-Д, мкг/мл (n -6)	0.27±0.005	0.30±0.007*	-33* 44*+ -48*+»	-37* 90*+ -70*+»
СА, % (n -6)	4,8±0.04	6.7±0.06*	-17* 48*+ -19*+»	-37* 22*+ -68*+»
АДФ-АГ, % (n -6)	55.6±1.4	68.5±2.4*	-19* 24*+ -26*+»	-34* 15*+ -37*+»
ДК, А/мг ЛП (n -6)	0.051±0.00	0.062±0.010*	-14* 54*+ -57*+»	-32* 43*+ -56*
ТБК, ед/мг ЛП (n -6)	0.74±0.51	0.75±0.021*	-12* 70*+ -36*+»	-11* 97*+ -48*+»
ПИ, мин/мл (n -6)	40.0±1.6	37.6±1.1*	12* -25*+ 57*+»	19* -40*+ 85*+»
СО, мм ³ в мин (n-6)	0.77±0.033	0.84±0.12*	-11* 28*+ -34*+»	-9* 41*+» -45*
Т. к ТР, % (n -8)	91.4±4.1	85.0±3.3*	10* -39*+ 31*+»	49* -39*+ 46*+»

Обозначения как к табл. 2; Примечание: величины, выраженные в %%, указывают насколько и в каком направлении (знак «-» - ограничение эффекта, отсутствие знака - прирост эффекта) изменен эффект С-недостаточности (1-я строка - при наличии в рационе АК, 2-я - при наличии в рационе АК и свинца, 3-я - АК и димефосфона)

Таблица 6. Изменения (в % относительно величин, найденных на 7-й или 15-й дни при питании рационом без АК) активности тромбоцитов, уровня маркеров ВТФ, ЛПО, АОП и ТкТР у крыс при введении им с АК, АК+ацетат свинца, АК+димефосфон

Показатели	Казеиново-крахмальный рацион без добавки АК		- 1-я строка - тот же рацион+АК (5.5.мг/кг); - 2-я строка – тот же рацион +АК+свинец (50 мг/кг/сут). - 3-я строка - тот же рацион+АК+ДМ (1 г/кг/сут)	
	7-й день	15-й день	7-й день	15-й день
P ₃ % (n -8)	67.9±009	67.1±008	0 6* -10*	0 7*+ -13*
P ₄ , с (n -8)	3.3±0.01	3.2±0.03	0 3*+ -3+	0 6*+ -3
ФГ, г/л (n -8)	2.2±0.05	2.3±0.05	0 -12*+ 0	0 -40*+ 9*+
ПДФ, мг% (n -8)	15.1±0.7	14.8±0.9	0 10* 0	0 20*+ -11*
РКМФ, мкг/мл (n -6)	23.5±0.7	24.0±0.8	0 7* 0	0 9*+ -21*+
Д-Д, мкг/мл (n -8)	0.18±0.006	0.19±0.006	0 22* 0	0 26*+ -21*+
СА, % (n -8)	4,1 ±0.03	4,2±0.05	0 7* 0	0 12* -14*+
АДФ-АГ, % (n - 8)	50.3±0.7	51.1±1.1	0 8 8* 0	0 10*+ -10*+
ДК, А/мг ЛП (n -6)	0.043±0.002	0.040±0.002	0 7* -9*	0 25* -12*+
ТБК, ед/мг ЛП (n -8)	0.63±0.039	0.61±0.042	0 5* -5*	0 15*+ -10*+
ПИ, мин/мл (n -8)	40.4 ±1.0	39.8±0.9	0 -8* 8*+	0 -9* 20*+
СО, мм ³ в мин (n-8)	0.63±0.03	0.59±0.03	0 5* -5*+	0 34* -5*+
Т. к ТР, % (n -8)	100	100	0 -21*+ 9	0 -30*+ 15*+

Примечания: Т. к ТР – толерантность к тромбину; * - достоверное отличие от величин в 1-й (или 2-й) колонке цифр, + - от данных, полученных на 7-й или 15-й день (т.е. от данных 1-й строки в той же колонке). Знак «-» - снижение, без знака «-» - повышение.

Анализ данных указывает на следующее:

1. У свинок (табл. 5), при исключении витамина С из рациона растут уровни фф. P₃ и P₄, маркеров ВТФ, липидпероксидов, способность к агрегации и СО, сокращается ПИ (особенно на 15-й день). При ведении АК в дозе, равной суточной потребо-

сти, изменений нет. **2.** Ускорение ЛПО свинцом усугубляет сдвиги, вызванные дефицитом АК особенно на 15-й день. **3.** Введение ДМ на фоне АК в объеме суточной потребности устраняет сдвиги.

Следовательно, прооксидант активирует тромбоциты, ускоряет ВТФ и ЛПО, снижая одновременно АОП. Антиоксидант, напротив, усиливает эффект АК, способствуя более полному устранению гемостатических сдвигов. Действие ДМ суммируется с действием АК не только на ЛПО и АОП, но и на гемостаз, хотя суммация и не является полной.

У крыс (табл. 6), изменения иные: **1.** Добавление АК к С-авитаминозному (казеиново-крахмальному) рациону не изменило параметров гемостаза, ЛПО и АОП (выявлено лишь некоторое замедление ЛПО и небольшой рост АОП). **2.** При введении крысам свинца на фоне той же дозы АК растет активность тромбоцитов, содержание маркеров ВТФ и интенсивность ЛПО, снижаются АОП и толерантность к тромбину, однако, интенсивность сдвигов уменьшена. **3.** При введении крысам ДМ одновременно с АК в дозе, эквивалентной суточной потребности свинок, наблюдаются слабо выраженные изменения противоположной направленности. Изменения усиливаются при большей продолжительности опыта (к 15 дню).

Есть ли различия в степени изменений, вызываемых введением АК в составе С-авитаминозного рациона, между животными синтезирующими и несинтезирующими витамин С, а также в реакции животных на введение свинца или ДМ? Сопоставляя сдвиги показателей, установленных у свинок и крыс в одинаковых по характеру экспериментах, мы нашли следующее (рис. 9):

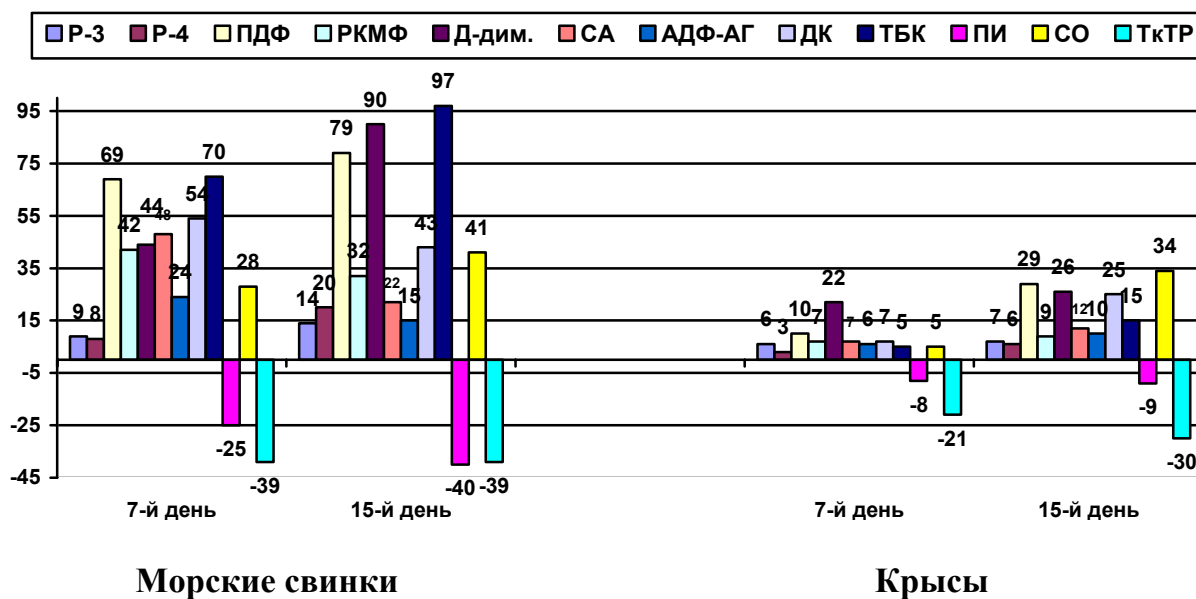


Рисунок 9. Степень изменения (относительно контроля, в %) активности тромбоцитов, уровня маркеров ВТФ, ЛПО и АОП у морских свинок и крыс на 7-й и 15-й дни содержания на С-авитаминозном рационе

1. При питании рационом без витамина С в течение 15 дней у крыс не изменяются показатели состояния гемостаза, ЛПО и толерантность к тромбину. **2.** Введение в рацион АК в дозе, равной суточной потребности свинок, не приводит у крыс к сдвигам этих показателей (сдвиги на 0.5-1.6% статистически не подтверждаются - отмечены в таблицах как равные нулю). **3.** Введение на фоне АК свинца вызвало активацию тромбоцитов, рост уровня маркеров ВТФ, ускорение ЛПО, снижение АОП и толерантности к тромбину уже к 7, и заметнее – к 15 дню, однако степень сдвигов у крыс в эти сроки менее выражена, чем у свинок.

4. Менее выражены у крыс в сравнении со свинками сдвиги, вызванные свинцом или димефосфоном.

Заключая, выделим основное.

У свинок, несинтезирующих витамин С, его дефицит в рационе сопровождается ускорением ЛПО и снижением АОП в тромбоцитах, ростом их агрегационной и «высвобождающей» активности, ускорением непрерывного внутрисосудистого свертывания крови (рост уровня маркеров ВТФ). Эти изменения усиливаются с увеличением длительности С-гиповитаминого кормления. У свинок, получавших С-авитаминовый рацион, в течение первых двух недель перечисленные выше сдвиги более выражены, а к концу 3-й недели (т.е. при появлении явных признаков скорбута) наблюдается уменьшение сдвигов агрегационной и «высвобождающей» способности тромбоцитов при прогрессирующем росте уровня маркеров ВТФ.

Введение в составе С-авитаминого рациона АК в дозе, отвечающей суточной потребности свинок, предупреждает описанные изменения практически полностью. Ограничиваются у них, но не устраняются полностью, вызываемые С-авитаминозом изменения, при введении ДФ (антиоксиданта невитаминной природы). В связи с этим можно считать, что гемостатические сдвиги при С-авитаминозе у свинок сопряжены с ускорением ЛПО и снижением АОП, однако, есть и другие механизмы развития гемостатических сдвигов. Наиболее вероятно, один из механизмов, обусловленных отсутствием витамина С в рационе, - нарушение формирования коллагена, роль которого в поддержании целостности сосудистой стенки известна (дефицит витамина С сопровождается нарушением формирования коллагена, обуславливающим рост проницаемости сосудистой стенки, что в свою очередь может за счет ускоренного поступления в кровоток тканевого фактора интенсифицировать ВТФ, что проявляется повышением уровня маркеров этого процесса в кровотоке).

У крыс, синтезирующих витамин С, его отсутствие в рационе не сопровождается изменениями ЛПО и АОП - видимо, синтезирующийся в организме этих животных витамин С обеспечивает (естественно, наряду с другими компонентами антиоксидантной системы) обычную интенсивность ЛПО и обычные уровни АОП. Введение в С-авитаминовый рацион таких животных дополнительного количества АК в дозе, соответствующей суточной потребности свинок, также не оказывает заметного влияния на активность тромбоцитов, ВТФ, ЛПО и АОП. Введение невитаминного антиоксиданта димефосфона одновременно с небольшой дозой АК проявляется в организме крыс небольшим ограничением ЛПО (менее заметным, чем у свинок).

ВЫВОДЫ

1. Пребывание на С-гиповитамином рационе питания приводит у животных, несинтезирующих витамин С, к прогрессирующему ускорению липидпероксидации, снижению антиоксидантного потенциала, росту интенсивности взаимодействия тромбин-фибриноген и снижению толерантности к тромбину.

2. При появлении явных признаков скорбута (к концу 3-й недели С-авитаминого питания) у морских свинок агрегационная и «высвобождающая» способность тромбоцитов уменьшается, но не достигает исходного уровня, а интенсивность ВТФ продолжает увеличиваться на фоне нарастающей гипероксидации

3. У свинок при С-авитаминозе изменения взаимодействия тромбин-фибриноген и толерантности к тромбину предупреждаются аскорбиновой кислотой в дозе, равной суточной потребности, и неполностью ограничиваются антиоксидантом димефосфоном (антиоксидантом невитаминной природы), устраняющим изменения липидпероксидации и антиоксидантного потенциала.

4. У животных, синтезирующих витамин С, аскорбиновая кислота в дозах, превышающих суточную потребность в 2-3 раза, сохраняет антиоксидантное действие, снижая интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген и повышая толерантность к тромбину, а в большей дозе действует как прооксидант, ускоряя взаимодействие тромбин-фибриноген и снижая толерантность к тромбину.

5. Четырёхкратный избыток АК в рационе у свинок к концу 3-й недели оказывает прооксидантный эффект (активация ЛПО и снижение АОП), повышает активность тромбоцитов, ускоряет взаимодействие тромбин-фибриноген и снижает толерантность к тромбину.

6. Введение антиоксиданта невитаминной природы усиливает, а введение прооксиданта снижает способность аскорбиновой кислоты ограничивать изменения интенсивности ВТФ и толерантности к тромбину, сопутствующие С-витаминной недостаточности у животных, не синтезирующих витамина С. У животных, синтезирующих аскорбиновую кислоту, эти эффекты менее выражены.

7. Прооксидантный эффект аскорбиновой кислоты у несинтезирующих витамина С животных, выражен заметнее при дозах, одинаковых в пересчете на массу тела.

...

На основании полученных данных можно допустить, что влияние дефицита витамина С на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови обусловлено не только его антиоксидантными свойствами, но и другими метаболическими функциями, в частности, участием витамина С в формировании коллагена и в сохранении атромбогенности эндотелия. Тот факт, что избыток витамина С ускоряет внутрисосудистое свертывание крови, должен приниматься во внимание при назначении больших доз аскорбиновой кислоты в терапии заболеваний с склонностью к тромбообразованию.

Публикации по теме диссертации.

1. Влияние половых стероидов (этинилэстрадиолола и левоноргестрела) на взаимодействие тромбин-фибриноген в кровотоке /Ю.А.Рудзевич, Е.М.Шаповалов ... Э.В.Багумян и др. // Теория и методология современного научного исследования Тюменского региона (сб. статей аспирантов и соискателей). Тюмень. - 2003. С.121-122

2. Толерантность к тромбину при гипо-гипертиреозе и тиреотоксикозе /Г.А.Сулкарнаева, Е.М.Шаповалов, Э.В.Багумян и др.// Экологическое образование и здоровый образ жизни (Сб. матер. 2-й региональной научно-практ. конференции). - Сургут. - 2006. - С. 147-151

3. Влияние витаминов А, Е, С и Р., вводимых порознь и одновременно, на внутрисосудистое свертывание крови / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, Э.В.Багумян и др. // Фундаментальные исследования. - 2007. - 1. - С.24

4. Послеоперационные тромботические осложнения и их профилактика /А.Ш.Бышевский, В.А.Полякова, Е.А.Винокурова, Э.В.Багумян // Глава в книге «Гемостаз при оперативных вмешательствах в гинекологической практике». - М: Медицинская книга. - 2006. - С.74-82

5. Влияние витамина Е на фибринолиз и общую свертываемость крови /Г.А.Сулкарнаева, С.В.Миневцев, О.З.Мустаев, Э.В.Багумян // Глава в книге «Витамины, внутрисосудистое свертывание крови и липидпероксидация». - М: Медицина. - 2006. - С.13-16

6. Гемостатические эффекты витамина Р /Э.В.Багумян // Там же. - С.50-51

7. Зависимость гемостаза от обеспеченности витамином С / А.Ю.Рудзевич, Э.В.Багумян, Е.М.Шаповалова, А.В.Шидин // Глава в кн. «Зависимость гемостаза от С-витаминовой обеспеченности организма». - М: Медицинская книга. 2007. - С 16-28.

8. Влияние аскорбиновой кислоты на липидпероксидацию и внутрисосудистое свертывание крови при гипероксидации /А.В.Багумян, А. Ю.Рудзевич, М.К.Умутбаева и др.// Глава в кн. «Зависимость гемостаза от С-витаминовой обеспеченности организма». - М: Медицинская книга. - 2007. - С 47-71

9. Влияние дефицита витамина С на содержание в крови аскорбиновой кислоты, её погло-
тительную способность и на взаимодействие тромбин-фибриноген / Э.В.Багумян,
П.Я.Шаповалов // Медицинская наука и образование Урала. - 2007. - 1. - С.7-9

10. Соотношение между толерантностью к тромбину и плазменным содержанием маркеров
взаимодействия тромбин-фибриноген / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... Э.В.Багумян и др. //
Матер. конф. «Клиническая гемостазиология в сердечно-сосудистой хирургии» (с междуна-
родным участием). - Москва: НЦ ССХ им. А.Н.Бакулева РАМН. - 2007. - С.41-42

11. Влияние половых стероидов (этинилэстрадиолола и левоноргестрела) на взаимодейст-
вие тромбин-фибриноген в кровотоке / Ю.А.Рудзевич, Е.М.Шаповалов ... Э.В.Багумян и
др. // Заочная электронная конференция «Доклиническая и клиническая апробация новых
лекарственных средств. 15-20 октября 2006 г

Использованные сокращения

А	Оптическая плотность
АДФ-АГ ...	АДФ-индуцируемая агрегация
АК	Аскорбиновая кислота
АОП	антиоксидантный потенциал
ВТФ	взаимодействие тромбин-фибриноген
Д-Д	Д-димеры
ДК	диеновые конъюгаты
ДМ	Димефосфон
ЛП	липиды
ЛПО	липидпероксидация
ПДФ	продукты деградации фибрина
ПИ	период индукции
РФМК	растворимые фибринмономерные комплексы
СА	спонтанная агрегация
СО	скорость окисления
ТБК	ТБК (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой)
ФГ	фибриноген
Ф. (фф.)	фактор (факторы)

**ВНУТРИСОСУДИСТОЕ СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ
К ТРОМБИНУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ С-ВИТАМИННОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ
ОРГАНИЗМА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук**

03.00.04 – биохимия

Подписано в печать «.....» Тираж 100 экз.

Объем 1 п.л. Формат 60x84/16. Заказ №

Технический отдел ТГМА

625023, ул. Одесская, 54