

На правах рукописи

АЛБОРОВ Робинзон Григорьевич

**РОЛЬ КЛЕТОК КРОВИ В СВЯЗИ МЕЖДУ ТОЛЕРАНТНОСТЬЮ К ТРОМ-
БИНУ, СОДЕРЖАНИЕМ В КРОВОТОКЕ ПРОДУКТОВ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРОМБИН-ФИБРИНОГЕН
И ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЕЙ**

03.00.04 – Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Тюмень – 2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении Высшего профессионального образования «Тюменская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный консультант: доктор медицинских наук профессор
Бышевский Анатолий Шулимович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук профессор
Соловьев Владимир Георгиевич

доктор медицинских наук профессор
Высокогорский Валерий Евгеньевич

доктор медицинских наук профессор
Камилов Феликс Хусеинович

Ведущее учреждение: Государственное учреждение
Гематологический научный центр РАМН
(г.Москва)

Защита состоится 23 июня 2006 г. В 9 часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.274.07 при Тюменском государственном университете по адресу: 625003, г.Тюмень, ул. Пирогова, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки Тюменского государственного университета.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2006 г

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук профессор

Е.А. Чирятьев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность выбранного направления исследований определяется, участием клеток крови в функционировании системы гемостаза, хотя и до настоящего времени один из его компонентов чаще называют тромбоцитарным, а не клеточным [Б.А.Кудряшов, 1975; Э.С.Габриелян, С.Э.Акопов, 1985; В.П.Балуда и др., 1995; А.Л.Папаян, 2003; В.Ф.Киричук и др., 2005; Gaertner, 1960; Ratnoff, 1991; McKenzie, 1999]. Это связано с преимущественным (в сравнении с другими клетками) вкладом тромбоцитов в сохранение жидкого состояния крови и в её свертывание [З.С.Баркаган, 1998; Д.М.Зубаиров, 1978; 2000; А.С.Шитикова, 2000; А.Д.Макацария, 2000; Sims, Wiedmer, 1991; Gawaz, 2001]. В действительности же, все виды клеток крови и эндотелиоциты, соприкасающиеся с ней, участвуют в процессах сохранения жидкого состояния крови, в тромбогенезе, следовательно, и в фибринообразовании, и в ликвидации его последствий.

Несколько десятилетий назад известные на тот период данные о роли клеток крови в гемостазе подверглись анализу в ряде фундаментальных работ [В.А.Германов, О.Н.Пиксанов, 1964; Б.И.Кузник, В.П.Скипетров, 1974; И.Н.Ашкинази, 1977; А.А.Маркосян, 1970; Н.Н.Петрищев, 1994; А.С.Шитикова, 2000; Perlick E., 1959; Gaertner, 1960; Gawaz, 2001]. Однако и до настоящего времени представления о взаимодействии клеток крови в процессах гемостаза окончательно не сформированы, хотя посвященных этой проблеме работ в периодике немало. Есть данные, свидетельствующие о кооперации между тромбоцитами и другими клетками крови. Показано, что эритроциты и разные формы лейкоцитов могут опосредованно, а не только путем высвобождения прокоагулянтов, антикоагулянтов и фибринолитических агентов, участвовать в регуляции гемостаза:

- при некоторых заболеваниях одновременно увеличивается агрегационная активность эритроцитов и тромбоцитов [Н.Р.Иванов и др., 1984; Г.Я.Левин, С.Б.Кораблев, 1984; З.С.Баркаган, 1978; 2000];
- все виды клеток крови служат источником коагулоактивных фрагментов клеточных мембран [Д.М.Зубаиров и др., 1984; О.А.Терсенов 1984; А.Ш.Бышевский и др., 1987, 1993, 2004, 2006];
- АДФ, высвобождаемая эритроцитами при высоких скоростях сдвига, влияет на агрегацию тромбоцитов в кровотоке [Preston, 1988; Gawaz, 2001];
- выделяемая нейтрофилами сериновая протеаза усиливает агрегацию тромбоцитов [Selac e. a. 1988];
- лейкоциты концентрационнозависимо изменяют интенсивность высвобождения β -тромбоглобулина тромбоцитами [Pietersz e. a., 1988; Gawaz, 2001];
- протеазы лейкоцитов влияют на мембранные рецепторы тромбоцитов, изменяя их активность [Meuer e. a., 1993].
- тромбоцитарный простагландин E_1 влияет на продукцию супероксида нейтрофилами [Umeki, 1994];
- фосфолипаза A_2 мембран клеток крови ускоряет образование эндоперекисей в тромбоцитах, являясь инициатором “кислородного взрыва” в нейтрофилах [Н.В.Кучник и др., 1994];
- клетки крови вовлекаются во взаимную адгезию, в частности, интегрин тромбоцитов обеспечивают их адгезию к нейтрофилам [Spangenberg e. a., 1992];
- взаимодействие нейтрофилов и моноцитов, эритроцитов и нейтрофилов выявляется и в культурах [Г.П.Адаменко, 1993; В.Ф.Кузнецов, Т.П.Обернебесова, 1994];
- стимулированные лейкоциты интенсивно синтезируют фактор активации тромбо-

цитов [Naraba e. a., 1993];

- эластаза из нейтрофилов после обработки колониестимулирующим фактором, разрушает гликопротеид Ib тромбоцитов [Aziz e. a., 1993].

Это лишь частные примеры кооперативных отношений между клетками крови.

Немногочисленные исследования, посвященные взаимосвязи между липидпероксидацией (ЛПО) в клетках крови и их прокоагулянтной активностью, появились лишь в последние годы. Их результаты позволяют полагать, что процессы ЛПО, тесно сопряженные с состоянием гемостаза [В.Л.Филатова, 1996; А.Ш.Бышевский и др. 1998, 2005], реализуют свое влияние на тромбиногенез через воздействие на клетки крови, в частности, на тромбоциты [И.В.Селиванова, 1994; И.В.Ральченко, 1998; Н.Б.Баклаева, 2005]. Об этом же свидетельствует и то, что введение антиоксидантов ограничивает агрегацию тромбоцитов при разных патологических состояниях [А.Ш.Бышевский и др., 1994; Т.П.Шевлюкова, 1995; М.К.Умутбаева, 2004, 2005], а также данные о корреляции между ЛПО и гемостазом [С.Л.Галян, 1993; В.А.Полякова, 1994; И.Е.Городничева, 2003; И.А.Карпова, 2003; М.К.Умутбаева, 2005,].

Отсутствуют сведения о зависимости между содержанием в кровотоке продуктов взаимодействия тромбин-фибриноген (ВТФ) и интенсивностью непрерывного внутрисосудистого свертывания крови (НВСК). Вместе с тем, наличие маркеров ВТФ в плазме - следствие (и признак) НВСК, интенсивность которого отражает степень напряженности в системе гемостаза. Нет также сведений о зависимости между толерантностью к тромбину и интенсивностью ЛПО, о влиянии клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов) на содержание продуктов ВТФ, следовательно, и о вкладе клеток крови в поддержании НВСК, протекающего непрерывно с малой интенсивностью. Не изучена зависимость НВСК от процессов ЛПО в клетках крови. В то же время связь между коагуляционной активностью клеток крови и интенсивностью ВТФ в кровотоке, контролируемую по содержанию маркеров этого взаимодействия, вполне реальна. Об этом косвенно свидетельствуют сообщения исследователей, которые отстаивают представление о непрерывном функционировании системы свертывания крови [Д.М.Зубаиров, 1978, 2000; Д.М.Зубаиров и др., 1989; А.Ш.Бышевский, 1984; А.Ш.Бышевский и др., 1990; И.Н.Бокарев, 2000, 2002; Zwaal, 1982; Zwaal e.a., 1992].

Интерес к оценке интенсивности НВСК, протекающего в условиях физиологической нормы с малой интенсивностью [Д.М.Зубаиров, 1978, 2000; А.Ш.Бышевский и др., 1990, 2003, 2006], обусловлен тем, что при экстремальных воздействиях сдвиги уровня маркеров НВСК указывают на склонность к гипер- или гипокоагуляции [А.П.Момот, 1990; Т.А.Батрак, 1999; И.Н.Бокарев, 2000 а, б, в, 2002; М.К.Умутбаева, 2003, 2005]. Не известно, однако, как соотносятся уровень маркеров ВТФ и толерантность к гипертромбинемии и интенсивность ЛПО в клетках крови с их коагуляционной активностью.

Эти обстоятельства обратили внимание гемостазиологов на изучение роли клеток крови в обеспечении связи между взаимодействием тромбина с фибриногеном с одной стороны, и ЛПО – с другой. Можно надеяться, что факты, полученные при изучении проблемы, позволят углубить представления о механизмах взаимосвязи ЛПО-гемостаз, и, возможно, явятся основой для разработки методов направленного воздействия на интенсивность ВТФ, путем модификации ЛПО в клетках крови.

Цель исследования.

Выявить, есть ли связь между содержанием маркеров взаимодействия тромбин-

фибриноген в кровотоке и толерантностью к тромбину, существует ли зависимость между интенсивностью липидпероксидации в тромбоцитах, эритроцитах, лейкоцитах и содержанием маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген, как показателя интенсивности непрерывного внутрисосудистого свертывания крови.

Задачи исследования:

1. Разработать способ количественной оценки толерантности к тромбину;
2. Изучить экспериментально сдвиги толерантности к тромбину при воздействиях, повышающих или снижающих содержание в кровотоке маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген;
3. Изучить у экспериментальных животных изменения интенсивности непрерывного внутрисосудистого свертывания крови в зависимости от коагуляционной активности тромбоцитов на фоне угнетения и активации липидпероксидации и антиоксидантного потенциала, вызываемых введением антиоксиданта или прооксиданта;
4. Изучить последовательность появления сдвигов ЛПО и АОП, активности тромбоцитов и уровня маркеров НВСК при первичной активации или угнетении свободнорадикальных процессов;
5. Изучить у экспериментальных животных динамику развития изменений ЛПО и АОП в эритроцитах, нейтрофилах и моноцитах, сопоставить её с динамикой изменений интенсивности НВСК;
6. Изучить влияние инфузии эритроцитов и лейкоцитов, полученных у животных, которым предварительно вводили про- или антиоксиданты, на интенсивность ЛПО, АОП и НВСК у крыс, не подвергавшимся таким воздействиям;
7. Изучить состояние ЛПО и АОП в клетках крови больных аденомой предстательной железы до и после операции, и у больных с инсулинзависимым сахарным диабетом – заболеваниями, отличающимися по патогенезу, но сходными в том, что им сопутствуют сдвиги ЛПО и АОП, а также гемостатические нарушения.

Научная новизна.

Разработан и испытан в разных экспериментальных ситуациях способ определения толерантности к тромбину у лабораторных животных, который позволяет количественно оценивать эффект различных воздействий на этот интегральный показатель состояния гемостаза в небольших группах животных.

Впервые выявлена и статистически подтверждена зависимость между уровнем маркеров непрерывного внутрисосудистого свертывания крови и толерантностью к тромбину.

Количественно охарактеризована способность эритроцитов, нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов ускорять агрегацию тромбоцитов и реакцию высвобождения тромбоцитами фф. P₃ и P₄.

Подтверждено ранее не применявшимися приёмами, что по способности активировать липидпероксидацию, агрегацию и общую коагуляционную активность тромбоцитов клетки крови располагаются по убывающей: моноциты > эритроциты > нейтрофилы. Показано, что степень влияния этих клеток на тромбоциты зависит от интенсивности перекисного окисления липидов в них – она повышается после введения прооксиданта и снижается после введения витаминов-антиоксидантов или синтетического антиоксиданта димефосфона.

Впервые установлено, что в условиях экзогенной гипертромбинемии, наряду с развитием вторичной гипокоагулемии (гипокоагулемии потребления), увеличивается

(пропорционально приросту содержания продуктов ЛПО) в эритроцитах и в лейкоцитах их способность активировать тромбоциты. При повышении антиоксидантного потенциала влияние гипертромбинемии на способность эритроцитов и лейкоцитов к агрегации и реакции высвобождения снижается.

Практическая ценность работы

1. Разработан способ определения толерантности животных к тромбину (патент № 2219546, приоритет от 04.05.2000, регистрация в Госреестре изобретений РФ 20.12.2003), который позволяет на малой группе животных количественно оценить влияние какого-либо воздействия на «готовность» организма к ускоренному тромбинообразованию. 2. Полученные нами данные, наряду с данными Московской государственной академии физической культуры, НИИ онкологии (М.), научно-производственного объединения «Витамины» (М.), Читинской Госмедакадемии) использованы при составлении инструкции по клиническому испытанию Селмевита к «Заявке в Фармакологический Комитет МЗ РФ» (1999), при написании монографий «Биохимические сдвиги и их оценка в диагностике патологических состояний» (М.: Медицинская книга, 2002), «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». М.: Медицинская книга, 2003), «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов» (М.: Медицинская книга. – 2004). 3. На основе полученных нами данных и с нашим участием подготовлены и изданы методические рекомендации для врачей-акушеров и гинекологов: «Профилактика тромбгеморрагических осложнений в родах и послеродовом периоде» (Минздравмедпром, ТГМА, Городская клиническая больница г.Тюмень № 3. - 1997), «Антиоксидантная терапия при гестозах» (Минздравмедпром, ТГМА, Городская клиническая больница г. Тюмень № 3. – 1997). 4. Результаты работы внедрены в работу ряда клинических учреждений г. Тюмени и Тюменского региона.

Положения, выносимые на защиту

1. Определение степени снижения фибриногенемии при дозированном внутривенном введении тромбина позволяет в опытах с малым числом животных (крыс) количественно оценить толерантность к тромбину. Полученные при этом данные согласуются с результатами способа-аналога, основанного на учете частоты выживания животных после введения тромбина в кровоток, и способа-прототипа, основанного на определении десяти показателей состояния гемостаза. Недостаток способа-аналога - невысокая специфичность и необходимость в большом количестве животных (от 50 в группе), способа прототипа - значительный расход реагентов и препаратов, длительность определений и качественная форма выражения результатов – «толерантность выше» или «толерантность ниже», чем в контроле.

2. Величины толерантности к тромбину, установленные предложенным способом в разных экспериментальных ситуациях, находятся в обратной зависимости от плазменного содержания маркеров НВСК, и, следовательно, изменения их содержания отражают степень «готовности» организма к ответу на ускорение или замедление тромбообразования в кровотоке.

3. Ускорение ЛПО под влиянием разных по механизму действия прооксидантов увеличивает коагуляционную активность тромбоцитов, ускоряет НВСК и снижает толерантность к тромбину; торможение ЛПО антиоксидантами вызывает сдвиги противоположной направленности; последовательность изменений такова: сдвиги ЛПО и АОП в тромбоцитах предшествуют изменениям их коагуляционной активности, которые, в свою очередь, предшествуют изменениям интенсивности НВСК.

4. Изменения ЛПО и АОП в тромбоцитах при воздействии про- и антиоксидантов, выявляются одновременно в моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах. Инфузия тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов здоровым животным ускоряет НВСК и снижает толерантность к тромбину, особенно, если доноры клеток получали прооксидант, и в меньшей мере, если доноры получали антиоксидант. Инфузия моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов, особенно от доноров, получавших прооксидант, усиливает сдвиги НВСК, вызываемые инфузией тромбоцитов.

5. У лиц с патогенетически разными заболеваниями, сопровождающимися гипероксидацией и гемостатическими сдвигами (в наших наблюдениях - аденома предстательной железы и инсулинзависимый сахарный диабет), повышено содержание липидпероксидов в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах, ускорено НВСК. Эти изменения ослабляются при обычном лечении и, особенно при дополнении лечения комплексом витаминов-антиоксидантов.

Апробация и публикация.

Результаты работы **опубликованы**: 1. В медико-биологических журналах – 33 статьи (из них 19 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов докторских диссертаций); 2. Монографии 2 - «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов» (М.: Медицинская книга, 2003. - 68 с и «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов» (М.: Медицинская книга, 2004. – 80 с); 3. Главы в монографиях - 12; 4. В материалах Всероссийских (3), Международных (5) и зарубежных (3) конференций.

Доложены: на конференции молодых ученых и студентов стран СНГ (Полтава, 1992); научн. конференциях Объединения биохимиков Урала и Западной Сибири (Тюмень, 1992, Оренбург, 2003, Самара, 2005); Международных симпозиумах “Физиология и патология гемостаза” (Симферополь-Полтава, 1994) и “Биологически активные добавки к пище - нутрицевтики - и их использование с профилактической и лечебной целью при наиболее распространенных заболеваниях” (Тюмень, 1995); Российской конференции “Актуальные вопросы службы крови и трансфузиологии” (Санкт-Петербург, 1995); 9-й Европейской конференции “Вопросы гемореологии” (Сиена, 1995); 5-й Всероссийской конференции «Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения» (М., 2000); 6-й национальной конференции «Атеротромбоз артериальная гипертензия» (М., 2001); Сессии Всероссийской ассоциации тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. Шмидта-Кудряшова с международным участием (М., 2003); конф. «Актуальные вопросы экспресс-диагностики в хирургии» (М., РНЦХ РАМН, 2003); конференциях РАЕ «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине» (Афины, 2003) и конференции «Гомеостаз и эндэкология» (Хургада, 2004); IX международном конгрессе по клинической биохимии (Бангкок, 2004); 14 Международном конгрессе Дунайской лиги по борьбе с тромбозами и нарушениями гемостаза (Санкт-Петербург, 2004); на ежегодных международных симпозиумах “Медицина и охрана здоровья населения” (Тюмень, 1997-2005), на заседании Тюменского отделения ВБО (Тюмень, 2005), заседании Тюменского регионального отделения РАЕ (Тюмень, 2006).

Подготовлены и тиражированы (совместно с сотрудниками кафедры акушерства и гинекологии ТГМА и практическими врачами Областной клинической больницы) методические рекомендации: 1. Коррекция витаминами-антиоксидантами нарушений гемостаза при лапароскопических операциях на придатках матки – Тюмень, 2004 (соавт. В.А.Полякова, А.Ш.Бышевский, Е.А.Винокурова и др.); 2. Коррекция гемостазиологических показателей и нарушений липидного обмена у пациентов с ИЗСД и

диабетической нефропатией антиоксидантом «Компливит» и пищевым маслом «Эйконол» - Тюмень, 2001. (соавт. И.В. Ральченко, Е.В. Платонов, А.В. Волков и др.); 3. Профилактика витаминами-антиоксидантами тромбгеморрагических осложнений при консервативной миомэктомии лапароскопическим доступом. – Тюмень. – 2004 (соавт. В.А. Полякова, А.Ш. Бышевский, Е.А. Винокурова и др.).

Зарегистрированы рационализаторские предложения: 1. Способ профилактики гемостазиологических сдвигов при лапароскопических операциях на матке селмевитом / Удостов. ТГМА на рацпредложение № 6 от 17.09. 2004 (соавт. В.А. Полякова, А.Ш. Бышевский, М.К. Умутбаева и др. 2. Способ профилактики гемостазиологических сдвигов при обширных операциях на матке селмевитом / Удостов. ТГМА на рацпредложение № 5 от 17.09. 2004 г (соавт. В.А. Полякова, А.Ш. Бышевский, М.К. Умутбаева и др.).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 227 страницах, содержит 37 таблиц и 20 рисунков, включает введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы, методы и результаты), обсуждение и заключение, выводы и практические рекомендации, список литературы (474 публикации: 195 отечественных и 279 зарубежных).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть работы выполнена на нелинейных белых крысах (997 особей, 175 ± 17 г и 200 ± 15 г). Выбор животных связан с тем, что 1) для крыс известна суточная потребность в витаминах, применявшихся нами в качестве природных антиоксидантов, 2) что эффекторы агрегации тромбоцитов часто испытывали на крысах и установили значения DI_{50} для них, 3) что в прошлом работы по изучению гемостаза под влиянием разнообразных воздействий выполнены преимущественно на этих животных. Важно и то, что у крыс несложно брать пробы крови из v. jugularis (в шприц со стабилизатором) в количестве (40 мл/кг массы тела), достаточном для определения комплекса показателей без нарушения требований гемостазиологии [В.П. Балуда и др., 1980, 1995; З.С. Баркаган, 1998].

Принимая во внимание сезонные сдвиги гемостаза и его зависимость от метеофакторов [А.Ш. Бышевский, В.Н. Кожевников, 1986; В.П. Балуда и др., 1995], в эксперимент всегда включали контрольную группу, кроме серий с малыми интервалами между опытами. Кровь брали в шприц из обнаженной v. jugularis у наркотизированных (диэтиловый эфир) крыс. Стабилизатор - 3,8% раствор цитрата натрия (1:9). Рану закрывали кожным швом.

Экзогенную гипертромбинемию вызывали внутривенным введением раствора тромбина (1 мл/кг), активность которого по времени свертывания 0,2% раствора фибриногена составляла 25 с. Толерантность к тромбину оценивали по изменению уровня остаточного фибриногена плазмы, осаждаемого тромбином (метод разработан в процессе исследований и описан ниже).

Для выделения клеток крови объединяли кровь 4-х крыс обследуемой группы: у одной особи брали 4 мл крови, стабилизируя ее раствором гепарина (0,1 мл на 1 мл крови, концентрация гепарина - 5 000 ед./мл).

Для оценки состояния гемостаза определяли тесты и продукты, содержание которых в плазме позволяет судить об общей свертывающей активности крови, интенсивности НВСК и коагуляционной активности тромбоцитов:

1. Активированное время рекальцификации /АВР/ [Г.Н. Детинкина и др. 1984];
2. Активированное частичное тромбопластиновое время /АЧТВ/ [Г.Н. Детинкина и др. 1984]).

3. Содержание продуктов деградации фибрина /ПДФ/ - маркера коагуляционной активности (или компенсаторной активации фибринолиза, связанного с усиленной фибринацией) [Т.А.Рудницкая, 2003; Kobayashi e.a., 1987; Wada e.a., 1994]. Использовали модификацию А.Ш.Бышевского и др. [1991].

4. Содержание D-димеров (маркеров коагуляционной активности или компенсаторного фибринолиза [Н.К.Зяблицкая, 2003; Е.Г.Соболева и др. 2003; de Moerloose, Boehlen, 2003]) определяли методом, основанным на латексной агглютинации с моноклональными (по отношению к D-димерам) антителами (набор «D-dimer test», Roche). Результат выражали в мкг/мл эквивалентов фибриногена.

5. Содержание РФМК, также являющееся показателем НВСК [С.Т.Ветриле и др. 2003; Wada e.a., 1994, 1996, 2003], определяли с помощью количественного варианта фенантролинового теста [А.П.Момот и др., 1999].

6. Концентрацию в плазме осаждаемого тромбином фибриногена, снижение которой в присутствии других признаков активации свертывания, свидетельствует об ускорении НВСК [Wada e.a., 2003], определяли спектрофотометрически [А.Ш.Бышевский, В.Мохнатов, 1969].

7. Количество тромбоцитов определяли в периферической крови [З.С.Баркаган, А.П.Момот 1998] - их ускоренное потребление позволяет судить об активации гемостаза [З.С.Баркаган, 1988; Wada e.a., 2003]).

8. Агрегацию тромбоцитов определяли на агрегометре «Биола», индуктор агрегации – АДФ, конечная концентрация 0,01 мг/мл [З.А.Габбасов и др., 1989 а, б].

9. Спонтанную агрегацию определяли по Н.И.Тарасовой [В.П.Балуда и др., 1980]. Концентрацию тромбоцитов в плазме приводили к 250 - 500 тыс. клеток в мкл (диапазон, корректный для работы на агрегометре), разбавляя нормальную исследуемую плазму гомологичной (1:2), предварительно обедненной тромбоцитами плазмой.

10. Содержание ф. P₃ в плазме определяли по разнице показателей АВР плазмы до и после освобождения её от тромбоцитов (по Rabiner & Groder в описании [В.П.Балуда и др. 1980]).

11. Содержание ф. P₄ в плазме определяли по действию прогретой и обедненной тромбоцитами плазмы (источник термостабильного ф. P₄) на тромбин-гепариновое время свертывания плазмы (источник фибриногена и антитромбина III). Степень укорочения времени свертывания - мера активности ф. P₄ [В.П.Балуда и др., 1980].

12. Общую коагулирующую активность тромбоцитов (ОКАТ) определяли по их способности изменять время свертывания при добавлении в плазму, используемую для теста АВР [А.Ш.Бышевский и др., 1996].

Для оценки ЛПО и АОП определяли: содержание первичных и вторичных липидпероксидов (ДК и ТБК-продуктов соответственно), период индукции (ПИ) и скорость окисления (СО). Липиды экстрагировали 100-кратным избытком смеси равных объемов гептана и изопропилового спирта. Содержание ДК устанавливали по оптической плотности ($\lambda = 232$ нм) гептановой фазы. Содержание продуктов ЛПО, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), определяли в том же экстракте флуориметрически [В.Н.Ушкалова и др., 1987, 1997]. Интенсивность флуоресценции возбуждения оценивали с помощью флуориметра «Биан 130».

В экстрактах определяли также кинетические величины прямого инициированного окисления липидов молекулярным O₂ в присутствии инициатора свободно-радикального окисления (динитрилазобисизомасляная кислота). Величины ПИ выражали как время, затрачиваемое на поглощение исследуемой пробой 25 мм³ O₂, а СО - углом наклона линейного участка кинетической кривой [С.Н.Ельдецова, 1990].

Выделяли и отмывали тромбоциты для опытов *in vitro* и для определения ЛПО согласно описанию [А.Б.Самаль и др., 1990]. Цельные эритроциты для опытов *in vitro* и для исследования в них ЛПО выделяли и отмывали по И.Я.Ашкинази [1977].

Нейтрофилы и моноциты выделяли в градиенте плотности, создаваемом с помощью фиколла и верографина.

Из 9% раствора фиколла и 50% раствора верографина составляли ряд смесей:

А - 15,0 мл фиколла + 10 мл гипака (плотность - 1,14 г/мл)

Б - 17,5 мл фиколла + 10 мл гипака (плотность 1,13 г/мл)

В - 20,0 мл фиколла + 10 мл гипака (плотность 1,12 г/мл)

Г - 24,0 мл фиколла + 10 мл гипака (плотность 1,06 г/мл)

Затем составляли градиент плотности в центрифужной пробирке, внося последовательно по 2 мл смесей Г, В, Б и А и помещая на верхний слой (смесь А) 2 мл гепаринизированной плазмы, разбавленной буферным раствором Михаэлиса, к которому заранее добавляли 0,14 М раствор NaCl в соотношении 1:2. Далее центрифугировали 40 мин с ускорением 1 000 g при 22°C; после центрифугирования снимали плазму, оставляя слой примерно в 2 мм, который собирали отдельно и использовали (см. ниже) для выделения моноцитов (степень чистоты - 97-99% при соотношении 1:2).

С помощью остроконечной пипетки отсасывали слой между столбиками Г и В - это нейтрофилы (чистота 94-99%); отбрасывали содержащий эозинофилы слой (между столбиками, приготовленными из смесей А и Б). Отделенные фракции клеток осаждали центрифугированием, приливали к осадку 0,14 М раствор NaCl и повторно осаждали центрифугированием, повторяя отмывание дважды.

Фракцию лимфоциты+моноциты ($\approx 1:2$) выделяли в градиенте фиколл/триомбраст (смесь А - 10 объемов 34% раствора триомбраста плотностью 1,075 г/мл при 22°C и 24 объема 9% раствора фиколла; смесь В - 10 объемов 34% раствора триомбраста плотностью 1,097 г/мл при 22°C и 24 объема 14,6% раствора фиколла).

Градиент в центрифужной пробирке составляли из 5 мл смеси В и 5 мл смеси А, наслаивали 10 мл гепаринизированной крови, разведенной 1:2, и фракцию лимфоциты/моноциты, полученную ранее. После центрифугирования (40 мин, 400 g, 22°C) собирали легкую фракцию, соотношение лимфоциты/моноциты (66% - лимфоциты и 32% - моноциты). Примесь гранулоцитов составляла 1,2%, т.е. примерно как и в других работах [Pandolfi e. a., 1981].

Разделяли лимфоциты и моноциты изокинетическим методом [Ross, 1979]: для формирования градиента плотности раствор перколла плотностью 1,060 г/мл в среде, освобожденной от ионов кальция и магния, центрифугировали при 26 000 g 1 ч; на градиент наслаивали 3,0 мл суспензии моноциты+лимфоциты, содержащую 15 тыс. клеток в мкл, центрифугировали 5 мин при 400 g, затем отсасывали легкую фракцию (степень чистоты моноцитов - 91%).

При оценке АДФ-агрегации экспозиция клеток с плазмой длилась 30 мин. Для получения сопоставимых данных в пробу плазмы, объемом в 2 мл всегда вносили клетки, взятые из постоянного объема плазмы (0,2 мл). Следовательно, определяя значения ПИ или содержание ДК, ТБК-продуктов и других показателей, характеризующих состояние исследуемых клеток у контрольных и подопытных групп, мы получали сопоставимые величины.

Дозы и путь введения антиоксидантов и прооксидантов. Как активаторы ЛПО использовали ацетат свинца, этинилэстрадиол, тироксин, как ингибиторы - селмевит или димефосфон. Крысы получали суточную дозу одного из этих соединений или их комбинаций в составе рациона вязкой консистенции (каша из смеси овсяной и яч-

менной круп), в суточной порции которого равномерно распределяли вводимые вещества из расчета на 1 кг массы тела.

Ацетат свинца вводили по 50 или 100 мг на 1 кг массы тела. В этих дозах ацетат свинца активирует ЛПО и снижает АОП к 10-15-му дням [С.Н.Ельдецова, 1990; А.А.Мкртумян, 1994; В.Г.Соловьев, 1997]. Относительно малый эффект объясняется тем, что всасывается лишь около 5% добавленного к рациону ацетата свинца [Данные ВОЗ: Свинец, 1980].

Этинилэстрадиол вводили в дозе 4.0 мкг/кг. По экспериментальным данным у крыс эта доза заметно влияет на ЛПО [Э.А.Шабанов, 2000, П.Я.Шаповалов, 2000]. В пересчете на массу тела эта доза больше противозачаточной [А.А.Куземин, 1998; В.А.Полякова и др., 1999] в составе низкодозированных контрацептивов. Однако эффективные дозы биологически активных соединений в пересчете на массу тела всегда выше у животных с меньшей массой.

Тироксин усиливает ЛПО мембранных липидов [Wong, Hochstein, 1981], активирует фосфолипазу митохондрий, что ускоряет пероксидацию в мембранах [Marzoev e.a., 1983, 1985]. Растет скорость ЛПО и у лиц с гипертиреозом [Dumitriu e.a., 1988; Landriscina e.a., 1988].

В качестве антиоксидантов использовали:

Селмевит – комплекс витаминов с минеральными веществами (в одной таблетке содержатся: ретинола ацетат - 0,0005, токоферола ацетат - 0,0075, тиамин бромид - 0,00075, пиридоксина гидрохлорид - 0,0025, рибофлавин - 0,001, аскорбиновая к-та - 0,035, рутин - 0,0125, никотинамид - 0,004, пантотенат кальция - 0,0025, фолиевая кислота - 0,0005, липоевая кислота - 0,001 г; цианкобаламин - 3 мкг, железо двухвалентное - 0,0025, медь двухвалентная - 0,0004, кальций - 0,025, кобальт двухвалентный - 0,0005, марганец, цинк, магний и селен, двухвалентные соответственно 0,00125, 0,002, 0,025 и 0,025 г, фосфор пятивалентный - 0,03 и метионин - 0,1 г). Препарату свойственна высокая антиоксидантная активность, обусловленная присутствием «ловушек» свободных радикалов (витамины А, Е, Р и РР), протекторов HS-групп (липовая кислота, витамин С) и компонента ферментов антиоксидантной защиты (селен) [Ю.Ф.Удалов и др., 1997, 2000; А.Ш.Бышевский и др., 2003-2005]. Антиоксидантные свойства селмевита подтверждены экспериментально [С.Л.Галян, 1993; А.М. Мкртумян, 1994; А.Ш.Бышевский 1995, 1999; В.С.Соловьев, 1997] и клинически - в урологии [В.М.Шафер и др., 1989; Э.Н.Согрин, 2005], травматологии [М.К.Умутбаева, 2005], акушерстве и гинекологии [В.А.Полякова, 1994; А.В.Соловьева, 1999; Е.А.Винокурова, 1999; И.А.Карпова, 2003; Н.Б.Баклаева, 2005] и в эндокринологии [И.Е.Попова, 1999; Г.А.Сулкарнаева, 2004 г].

Димефосфон (1,1-диметил-3-оксибутирилфосфоновая кислота) - антиоксидантные свойства обусловлены синергическим влиянием на эффекты присутствующих в организме антиоксидантов. Использовали препарат, чтобы исключить возможность эффектов, связанных со специфическими свойствами витаминов, и ещё потому, что димефосфон у здоровых не влияет на гемостаз [С.Л.Галян, 1993; А.М.Мкртумян, 1994; В.Г.Соловьев, 1997;]. В дозе 1-3 г/кг димефосфон повышает у животных АОП [С.Н.Ельдецова, 1990; М.К.Умутбаева, 2003, 2004].

В опытах на животных использовали димефосфон в дозе, однократное введение которой тормозит агрегацию примерно на 50%. Такая степень сдвига оставляет место для выявления эффекта антиоксидантов на клетки крови, в том числе, и эффекта совместного действия антиоксидантов и антиагрегантов.

Каждому эксперименту сопутствовала контрольная группа (группа, не подвер-

гавшаяся воздействиям или не получавшая добавок в составе рациона).

Данные, характеризующие обследованных нами больных, приведены в соответствующих разделах.

Результаты исследований

Разработка способа определения толерантности к тромбину. Определение толерантности животных к тромбину с помощью одного из известных способов [Б.А.Кудряшов, 1960; Л.В.Михайлова, 1970] требует большого количества крыс (не менее 50 в контрольной и столько же в подопытной группе) для оценки влияния одного вида воздействий или одной дозы какого-либо соединения. Сущность этого способа-аналога в том, что после изучаемого воздействия животным инъецируют в яремную вену тромбин, устанавливая частоту гибели (или выживания) за 24 ч. Недостатки приёма: 1) необходимость использовать около 100 особей (по 50 в контроле и опыте) для оценки влияния одного вида воздействия на толерантность к тромбину, 2) длительность наблюдений (до 24 ч), 3) невысокая специфичность (часть животных гибнет в первый час после инъекции тромбина, часть же – в течение суток в связи с вторичными изменениями, вызываемыми тромбозами). Другой способ оценки толерантности к тромбину [Р.Ф.Каптюх, 1970], рассматривавшийся нами как прототип, основан на том, что после изучаемого воздействия животным контрольной и подопытной групп вводят раствор тромбина, а через 0.5 ч в пробах крови определяют 10 показателей (время рекальцификации, толерантность к гепарину, его уровень, анти-тромбиновую активность, уровень антитромбина III, антифибринолитическую активность и активность фибринолиза и антиплазмина, протромбиновое время, потребление протромбина). Сопоставляя изменения величин в контроле и опыте, выявляют, отличаются ли при исследуемом воздействии сдвиги каждого из 10 перечисленных показателей, и на этом основании судят о толерантности к тромбину, выражая её изменения качественно - «толерантность выше или ниже, чем в контроле». Недостатками этого приёма мы сочли: 1) неспецифичность определявшихся показателей [В.П.Балуда и др., 1995; З.С.Баркаган, 1998]; 2) трудоёмкость, длительность определений и математической обработки (при оценке воздействия одного фактора на толерантность требуется 2 группы животных по 5-7 особей, т.е. не менее 24 ч на определение фибринолиза, и около 3-4 ч на статистический анализ результатов – всего около 28 ч); 3) неоднозначность ответа, так как одни из показателей могут уменьшаться, другие увеличиваться; 4) качественный характер ответа: «толерантность уменьшилась или возросла».

В основу разрабатывавшегося нами способа, который позволил бы сопоставлять влияние на толерантность к тромбину различных воздействий (при небольшом числе подопытных животных и малых сроках наблюдения), взята оценка изменения фибриногенемии после внутривенной инъекции тромбина интактным и подвергшимся изучаемым воздействиям животных. Схема эксперимента, проведенного нами для оценки возможностей предполагаемого способа, такова:

1. Раствор тромбина (1 мл/кг массы тела, активность 24 с по времени свертывания 0.2% раствора фибриногена) вводили в яремную вену фиксированной на станке крысы после её пробуждения от наркоза. При введении более активного тромбина (17 с) в той же дозе обычно гибнет 40-50% крыс [Л.В.Михайлова, 1970; С.Л.Галян, 1993], поэтому для получения достоверных данных требуется около 50 особей в группе;

2. Пробы крови брали через 30 мин (0.9 мл в шприц, содержащий 0.1 мл 3.8% раствора трехзамещенного цитрата натрия);

3. В плазме крови определяли содержание коагулируемого тромбином фибрино-

гена, предполагая, что сдвиг фибриногемии может служить мерой толерантности организма к тромбину.

При позитивном результате опытов разрабатываемый приём отличался бы от прототипа меньшим числом определений (1 вместо 10), меньшим числом реагентов и препаратов, сокращением длительности определения, большей специфичностью.

Специфичность результатов в варианте, разрабатываемом нами, обусловлена тем, что: 1) фибриноген - основной субстрат тромбина в процессах свертывания [Д.М.Зубаиров, 1978, 2000; А.Ш.Бышевский и др., 1991; В.П.Балуда, 1995; З.С.Баркаган, 1998]; 2) изменения уровня реагирующего на тромбин фибриногена при экзогенной гипертромбинемии зависят от эффективности работы всех систем, обеспечивающих выживание организма при ускоренном тромбообразовании [Б.А.Кудряшов, 1975; З.С.Баркаган, 1988; В.П.Балуда и др., 1995; Д.М.Зубаиров, 1978, 2000].

Для расчета результата использовали формулу, учитывающую концентрацию фибриногена (%) в плазме крови крыс, которым тромбин не вводили (исходный уровень), и уровень фибриногена после введения тромбина (остаточная концентрация):

$$D = \{1 - [(C_k - C_0) : C_k]\} \times 100$$

где D – остаточная концентрация фибриногена, %; C_к – концентрация у крыс, которым тромбин не вводили и другим воздействиям не подвергали (исходный уровень); C₀ – концентрация фибриногена у крыс, которым ввели тромбин на фоне изучаемого воздействия или без него (остаточная концентрация).

Значение остаточной концентрации 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:

$$X\% = (D_0 : D_k) \times 100,$$

где X - толерантность к тромбину в %, D₀ – остаточная концентрация фибриногена (в %) у группы, подвергавшейся изучаемому воздействию, D_к - остаточная концентрация фибриногена (в %) у группы, не подвергавшейся изучаемому воздействию (контрольная группа).

Такой приём позволяет выяснить, влияет ли изучаемое воздействие на толерантность к тромбину (следовательно, и на предрасположенность к тромбообразованию) в эксперименте, используя в опытах с интактными, контрольными и подопытными группами 15-18 животных вместо 150 как это требуется при оценке частоты гибели (или частоты выживания).

Для проверки высказанных предположений провели эксперимент по схеме, приведенной ниже. Партию крыс (170±15 г) разделили на 3 группы – контроль, опыт I, опыт II. Крысам контрольной группы (7 особей, не подвергавшихся воздействиям) вводили 0.14 М раствор NaCl, крысам опыта I (32 особи) вводили раствор тромбина (1 мл/кг, активность - 25 с по времени свертывания 0.2% раствора фибриногена), крысам опыта II (32 особи) предварительно с рационом ввели ацетилсалициловую кислоту (50 мг/кг за 1 сут до тромбина), крысам опыта III вводили тироксин (25.0 мг/кг в течение трёх дней, предшествующих введению тромбина). Через 0.5 ч после инъекции тромбина у 7 крыс каждой группы брали пробы для определения фибриногена в плазме, а в подопытных группах, кроме того, в течение 24 ч учитывали число выживших. Группы с введением ацетилсалициловой кислоты или тироксина взяты в связи со следующим. Ацетилсалициловая кислота (ингибитор превращений арахидоновой кислоты в биомембранах), ослабляет выход тромбоксанов, следовательно,

тормозит агрегацию тромбоцитов, что снижает «готовность» крови к свертыванию. Тироксин активирует гемостаз (повышение уровня маркеров НВСК), следовательно, обладает противоположным действием [И.А.Дементьева, 1998; А.И.Волков, 2001; М.К.Умутбаева, 2003, 2005].

Содержание фибриногена определяли, осаждая его тромбином (0.1 мл к 0.1 мл плазмы, экспозиция при 37° С, 10 мин). Сгусток фибрина промывали 0.14 М раствором NaCl, осушивали фильтровальной бумагой, растворяли в 1 мл 0.5 М раствора NaOH при 60°С, охлаждали и определяли оптическую плотность раствора (λ 280 нм). Содержание фибриногена находили по калибровочной кривой, построенной с растворами фибриногена заданных концентраций.

1. У крыс контрольной группы до введения тромбина концентрация фибриногена составила 2.2 ± 0.04 г/л; 2. У крыс, которым ввели тромбин без предварительного воздействия, – 0.93 ± 0.03 г/л; 3. У крыс, получивших ацетилсалицилат, – 1.78 ± 0.02 г/л; 4. У крыс, получавших тироксин, – 0.31 ± 0.005 г/л.

Остаточная концентрация фибриногена $D = 1 - \{(C_k - C_0) : C_k\} \times 100\%$, оказалась равной: у крыс контрольной группы – 43.0 ± 1.2 %; у крыс, получавших ацетилсалициловую кислоту, – 81.1 ± 2.0 %; у крыс, получавших тироксин, – 14.0 ± 0.9 %.

Толерантность к тромбину у интактных крыс в условиях опыта, приняли за 100%, и нашли у подопытных крыс толерантность к тромбину по формуле $X\% = (D_0 : D_k) \times 100$. У крыс, получивших ацетилсалицилат, толерантность повысилась до **181** % против контроля, у получавших тироксин – упала до **32.5** % (сдвиги достоверны - $P < 0.05$). При оценке частоты выживания животных (табл. 1) нашли следующее: введение тромбина интактным животным (т.е. на фоне физиологической нормы) вызывает гибель крыс с частотой, установленной ранее при введении такой же дозы тромбина [Р.Ф.Каптюх, 1970; Л.В.Михайлова, 1970; Б.А.Кудряшов, 1975; В.Г.Соловьев, 1997].

Таблица 1. Частота выживания крыс в течение 24 ч после внутривенной инъекции тромбина (активность – 25 с, 1 мл/кг)

Подопытная группа	Общее число особей	Выжило (абсолютные значения)	Выжило, %
Контроль	25	13	52.0 ± 1.6
Крысы получали ацетилсалицилат	25	16*	$64.0 \pm 2.1^*$
Крысы получали тироксин	25	7*	$28.0 \pm 1.2^*$

Знак * - достоверное отличие от значений у интактных крыс

Частота выживания равна **52,9%**; при введении тромбина на фоне ацетилсалициловой кислоты выживание животных выше на **38%** против контроля; при введении тромбина на фоне тироксина частота выживания ниже, чем в контроле – **28.0** %. В итоге, показатели толерантности к тромбину по снижению фибриногенемии и по частоте выживания у интактных крыс равны 52 и 64.0 % соответственно. На фоне ацетилсалицилата толерантность повысилась с 43.0 до 81.1 %, а по частоте выживания – с 52.0 до 64.0 %, на фоне тироксина толерантность упала с 57.7 до 14.0 % (по изменению фибриногенемии), а по выживанию – с 43 до 28 %. Различия в степени изменения толерантности к тромбину по результатам двух способов связаны с тем, что в предлагаемом нами способе реакция на тромбин оценивается у всех крыс точно через 0.5 ч после инъекции (на одном и том же этапе развития ответной реакции). При оценке частоты выживания, контролируемого в течение 24, ч на результате сказываются последствия внутрисосудистого тромбообразования, вызванного тромби-

ном. Как показано в табл. 2, предложенный способ в сравнении с прототипом уменьшил в 10 раз число определяемых показателей и в 2 раза число используемых реагентов и препаратов, что позволило сократить в 10-12 раз время выполнения определений.

Таблица 2. Сравнительная характеристика разработанного нами способа оценки толерантности к тромбину и способа-прототипа, основанного на определении десяти показателей состояния гемостаза

Этапы реализации способа	Предлагаемый способ	Сопоставляемый способ
Воздействия, изменяющие толерантность к тромбину	Определяются характером воздействий (зависят от его продолжительности)	Определяются характером воздействий (зависят от его продолжительности)
Фиксация крысы и введение тромбина	3-5 мин на особь	3-5 мин на особь
Отбор проб и их обработка	Проба отбирается в один шприц (0.9 мл), 2 мин/особь	Проба отбирается в 2 шприца, до 4 мл, 5 мин/особь
Подготовка проб к анализу	Однократное центрифугирование, 10 мин	Центрифугирование при разных ускорениях, 25 мин
Проведение анализов	1 определение в 3-х повторностях – 5 мин	10 определений в 2-х повторностях – 24 ч
Обсчет результатов	- безмашинный – 10 мин на группу; машинный – 1 мин	- безмашинный – 6-7 ч на группу, машинный – 2 ч
Сопоставление результатов «контроль-опыт»	1-2 мин (расчет значений p)	1-2 ч (расчет значений p)
Объективность результатов	Количественное выражение уровня толерантности и её изменений при воздействиях (% к контролю)	Описательная характеристика: «толерантность ниже или выше контрольной»
Длительность определений	30-35 мин/особь или 3-4 ч на 2 группы (контроль-опыт, 10-12 крыс)	До 24 ч на особь или до 38 ч на 2 группы (контроль-опыт, 10-12 крыс)
Необходимые реагенты	1) NaCl, 2) NaOH, 3) лимоннокислый натрий,	1) NaCl, 2) NaOH, 3) Буфер Михаэлиса, 4) Лимоннокислый натрий, 5) Щавеловокислый натрий, 6) Хлористый кальций
Необходимые препараты	1) тромбин, 2) фибриноген	1) тромбин, 2) фибриноген, 3) гепарин, 4) протамина сульфат, 5) тромбопластин, 6) фибрин-порошок, 7) фибринолизин

Главное: в отличие от аналога в предложенном способе показатель, на значении которого основана оценка толерантности к тромбину, определяется у всех животных в одно и то же время после введения тромбина, тогда как выживание животных оценивают в течение 24 ч, из-за чего причина гибели животных зависит не только от способности организма противостоять гипертромбинемии, но и от локализации образующихся внутрисосудистых тромбов. В связи с этим предложенный нами способ отличается большей специфичностью. Важна и возможность количественного выра-

жения толерантности к тромбину, в то время как в способе-прототипе используются с этой целью качественные определения - «больше» или «меньше». Эти отличия позволили применить предложенный способ для оценки эффекта разнообразных воздействий на толерантность организма к тромбинемии. В частности, появилась возможность сравнивать толерантность к тромбину с содержанием маркеров НВСК, т.е. перейти к выполнению следующей задачи исследований.

Связано ли содержания маркеров НВСК с толерантностью к тромбину, т.е. отражает ли уровень маркеров НВСК наклонность к тромбообразованию? Необходимость в исследовании вызвана тем, что прямых подтверждений связи *интенсивность НВСК-толерантность к тромбину* (единичные косвенные данные о такой связи появились лишь в последнее время [М.К. Умутбаева, 2005; Э.А. Согрин, 2005]).

В первой серии экспериментов этой части работы мы нашли, что у крыс при экзогенной тромбинемии на фоне наркотического сна или после выхода из него, растет уровень маркеров НВСК (рост содержания продуктов ВТФ) одновременно со снижением толерантности к тромбину (рис. 1).

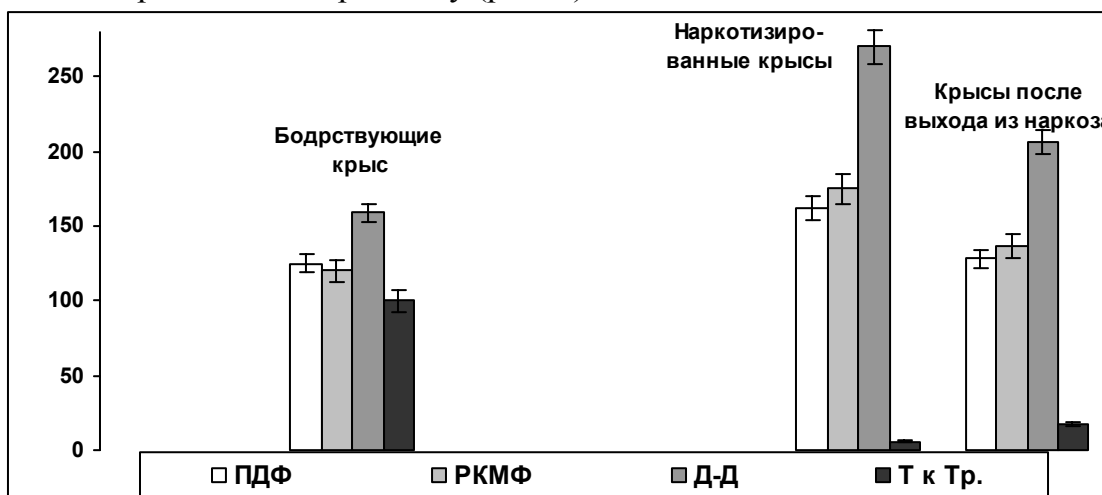


Рисунок 1. Изменения (в % к контрольным крысам) содержания маркеров НВСК (ПДФ, РКМФ, D-димеров – столбцы слева направо) и толерантности к тромбину (Т к Тр.) бодрствующих крыс, у крыс в состоянии эфирного наркоза и после выхода из него

Варьируя дозой тромбина во время наркотического сна, количественно охарактеризовали связь между содержанием маркеров НВСК и толерантностью к тромбину.

Оказалось (рис. 2), что с увеличением дозы экзогенного тромбина (справа налево) содержание маркеров НВСК растет пропорционально и почти линейно (коэффициенты аппроксимации соответствующих трендов во всех случаях выше 0.9). Толерантность к тромбину (Т к Тр) с увеличением дозы снижается экспоненциально, однако, достоверность аппроксимации в этом случае ниже (0.84). Из сказанного следует, что при гипертромбинемии растет содержание маркеров НВСК (т.е. ускоряется ВТФ или внутрисосудистое свертывание крови) пропорционально степени тромбинемии. Способность же организма переносить последствия тромбинемии (толерантность к тромбину) уменьшается экспоненциально при увеличении степени экзогенной тромбинемии.

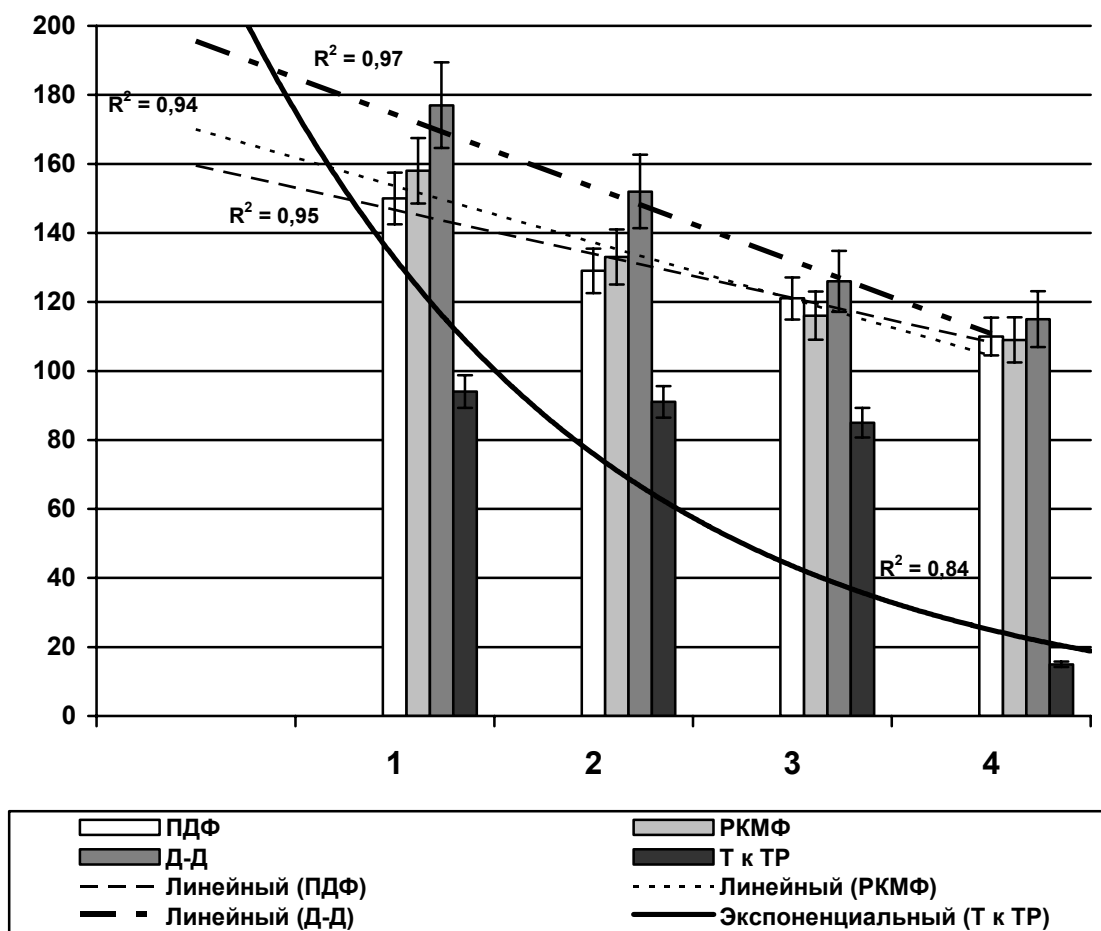


Рисунок 2. Степень изменения (в % от значений, найденных при введении цельного тромбина бодрствующим крысам) содержания маркеров НВСК и толерантности к тромбину при введении его в убывающих количествах наркотизированным крысам (1 – цельный раствор тромбина, 2, 3 и 4 – разбавленный в 2, 3 и 4 раза)

Сходны соотношения между степенью тромбинемии и содержанием маркеров НВСК и при ускорении эндогенного тромбиногенеза введением адреналина. Предварительно изучив эффект адреналина в дозе 30 мкг/кг, нашли, что рост содержания фф. P₃ и P₄, ПДФ, РКМФ и D-димеров проявляется как тенденция на 15-й и становится достоверным на 30-й мин после подкожной инъекции, что совпало с данными литературы [В.П.Бабич, 1973; М.К.Умутбаева, 2005].

Далее, приняв во внимание полученные данные, через 15 и 30 мин после инъекции адреналина крысам вводили внутривенно раствор тромбина (1 мл/кг, активность 25 с), определяя через 0.5 ч в пробах крови содержание маркеров НВСК и толерантность к тромбину. Анализ изменения содержания маркеров НВСК и толерантности к тромбину на рис. 3 показал, что с увеличением тромбинемии практически линейно растет содержание маркеров НВСК (все коэффициенты достоверности аппроксимации близки к единице). Толерантность к тромбину при этом снижается (как и при экзогенной гипертромбинемии) экспоненциально с довольно высоким коэффициентом аппроксимации (0.8511).

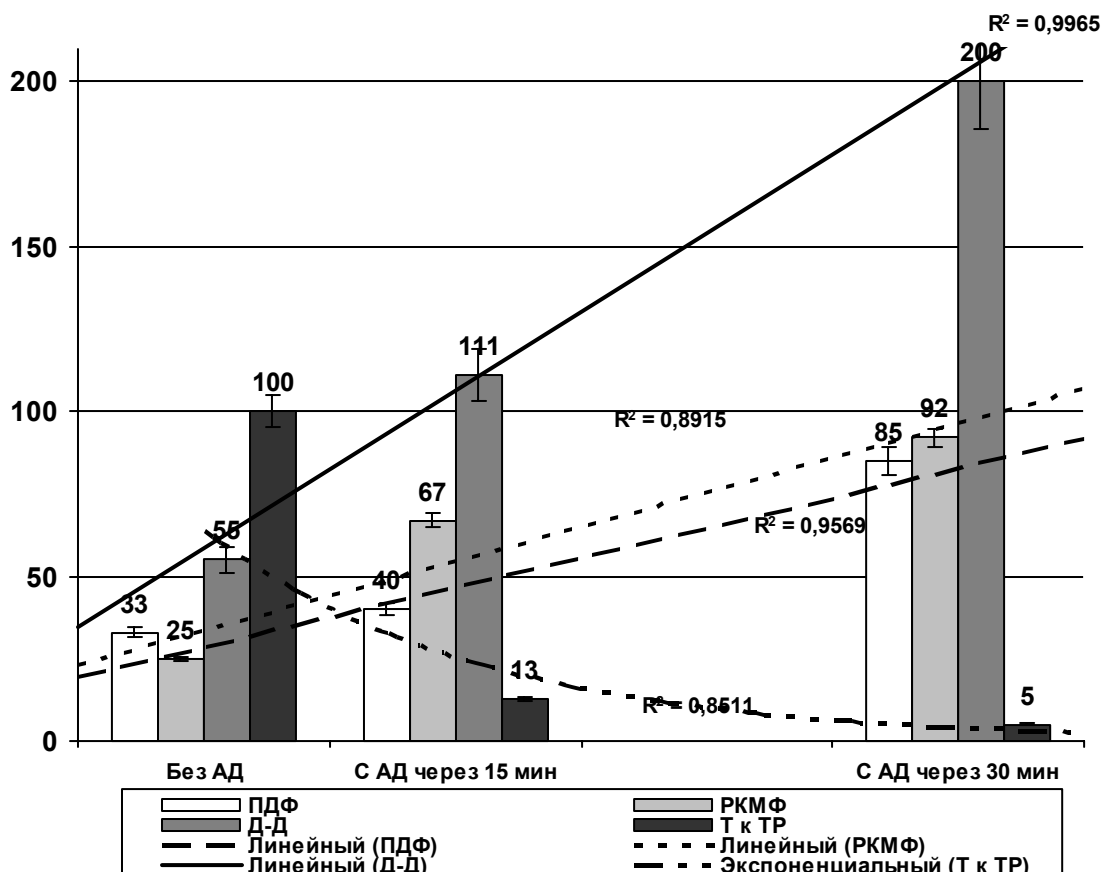


Рисунок 3. Изменения содержания маркеров НВСК и толерантность к тромбину при его введении на фоне инъекций адреналина (в % к результатам, полученным при введении тромбина крысам, которым адреналин не вводили)

Используя ещё одну модель эндогенной гипертромбинемии – кровопотерю [С.Л.Гаян, 1993; В.Г.Соловьев, 1997], - мы нашли, что через 1 ч после кровопотери растёт содержание РКМФ, ПДФ и D-димеров, а через 3 и особенно через 6 ч сдвиги усиливаются (табл. 3).

Таблица 3. Маркеры НВСК в разные сроки после кровопотери (n = 8 на каждом этапе)

Показатели	Контроль	Отбор проб после кровопотери через:			
		1 ч	3 ч	6 ч	24 ч
$\rho_3, \%$	88.6±2.0	95.8±2.1*	99.9±2.1*	102±2.2*	90.1±1.7
$\rho_4, \text{с}$	3.3±0.02	3.6±0.03*	4.6±0.04*	4.9±0.06*	3.7±0.02
ФГ, г/л	2.1±0.07	1.9±0.06*	1.4±0.05*	1.3±0.04*	2.0±0.08
ПДФ, мг%	14.4±1.2	16.9±1.1*	19.9±1.5*	24.7±1.6*	15.4±1.4
РКМФ, мкг/мл	25.4±0.8	29.4±0.6*	35.6±1.5*	38.9±1.3*	27.0±0.9
D-Д, мкг/мл	0.21±0.090	0.29±0.007*	0.30±0.008*	0.36±0.011*	0.23±0.012

Обозначения: ФГ – фибриноген, D-Д – D-димеры, * - отличия от контроля достоверны

Выбрав для исследования периоды с наиболее существенными сдвигами (1 и 6 ч после кровопотери), мы нашли, что толерантность к тромбину снижается в обратной зависимости от уровня маркеров НВСК (рис. 4).

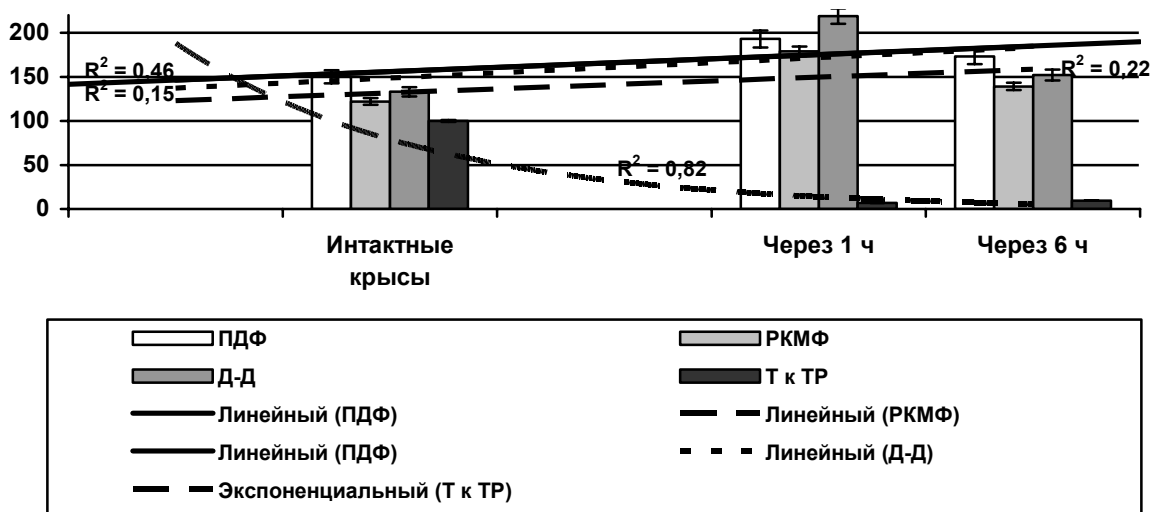


Рисунок 4. Изменения (в % к значениям у интактных крыс) содержания маркеров НВСК и толерантность к тромбину, вводимому через 1 и 6 ч после кровопотери

Рост содержания маркеров НВСК здесь аппроксимирован в виде линейного тренда с малым коэффициентом достоверности. Снижение толерантности к тромбину при росте содержания маркеров НВСК происходит экспоненциально, а коэффициент аппроксимации близок к единице – 0.82.

В качестве ещё одной природной модели колебаний тромбогенеза, мы использовали данные о сезонной вариабельности гемостатического потенциала [Б.И.Кузник и др., 1976; В.П.Балуда и др., 1978; А.Ш.Бышевский, В.Н.Кожевников, 1986]: изучили зависимость между уровнем маркеров НВСК и толерантностью к тромбину в разные времена года.

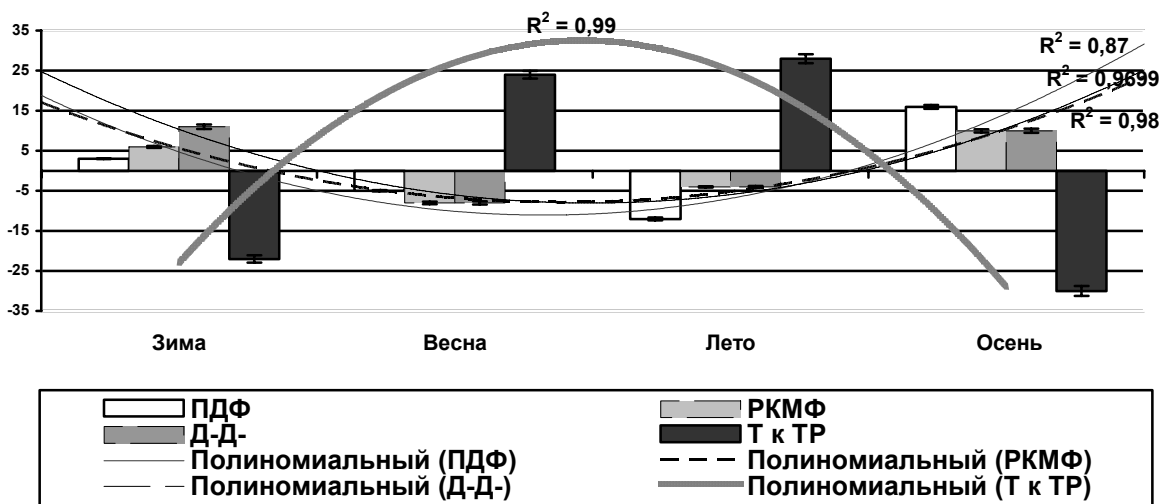


Рисунок 5. Изменения содержания маркеров НВСК и толерантности к тромбину в разные периоды года (в % к среднегодовым значениям)

На диаграммах рис. 5 видно, что сдвиги содержания маркеров НВСК сопровождались изменениями толерантности к тромбину, как ранее при кровопотере, или введении адреналина: содержание маркеров НВСК достоверно выше среднегодовых значений зимой и осенью, а весной и летом ниже их. Продемонстрированная с помощью полиномиальных трендов (их использование корректно для аппроксимации

фазно изменяющихся величин) динамика сдвигов указывает, что толерантность к тромбину ниже в зимний и осенний сезоны, и выше – весной и летом, а содержание маркеров НВСК в те же периоды соответственно растет и падает.

Таким образом, в разных экспериментальных ситуациях (варьирование дозой тромбина, введение адреналина, кровопотеря, сезонные сдвиги) повышенному содержанию маркеров НВСК (или ВТФ) соответствуют уменьшенные значения толерантности к тромбину. Чтобы не перегружать рисунков, мы не обсуждаем здесь сдвиги косвенных показателей ВТФ (фф. P₃ и P₄): они ведут себя точно также, как ПДФ, РКМФ и D-димеры - их содержание повышено в тех случаях, когда толерантность к тромбину снижается, и наоборот – содержание тромбоцитарных факторов ниже в моменты повышения толерантности к тромбину.

В конечном счете, выявлена определенная закономерность: рост содержания прямых и косвенных показателей интенсивности ВТФ (или содержания маркеров НВСК) сопровождается снижением толерантности к тромбину, а уменьшение их содержания сопровождается рост толерантности к тромбину. Это проявляется и при экзогенной гипертромбинемии, и при гипертромбинемии, обусловленной ускоренным (под воздействием разных факторов) тромбообразованием. Следовательно, ускорение НВСК, оцениваемое по приросту содержания определявшихся нами маркеров, сопровождается снижением толерантности к тромбину, т.е. повышением опасности внутрисосудистого тромбообразования. Видимо, определение уровня маркеров, прямо или косвенно отражающих интенсивность ВТФ в кровотоке, позволяет судить о степени «готовности» организма реагировать на гипертромбинемиию.

Содержание маркеров НВСК и прокоагулянтная активность тромбоцитов при изменении скорости ЛПО. Внутрисосудистое свертывание крови, контролируемое по уровню маркеров НВСК, интенсифицируется при ускорении ЛПО [М.К.Умутбаева, 2004, 2005], в чем участвуют и клетки крови [А.А.Кубатиев, С.В.Андреев, 1981; И.В.Ральченко, 1998; Daniels e. a., 1992], особенно тромбоциты [А.И.Бродер, 2004; Э.Н.Согрин, 2004]. Изучая экспериментально (в связи с этими данными) гемостаз при торможении ЛПО димефосфоном или селмевитом, мы уточнили представление о роли тромбоцитов в связи гемостаз-ЛПО. В частности, мы наблюдали (рис. 6), что при введении селмевита или димефосфона в примерно равной мере снижается «высвобождающая», коагуляционная и агрегационная способность тромбоцитов одновременно с замедлением ЛПО (снижение уровня ДК и ТБК-продуктов) и ростом АОП (удлинение периода индукции и снижение скорости окисления).

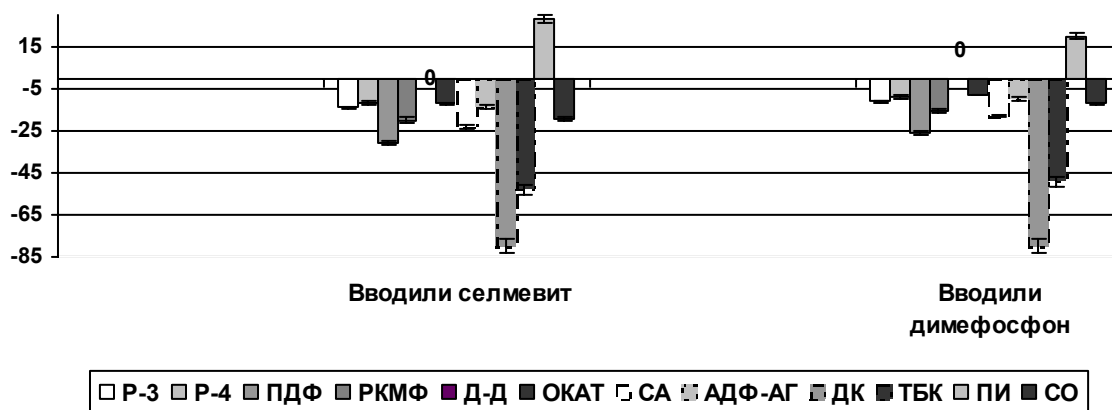


Рисунок 6. Изменения показателей активности тромбоцитов, маркеров НВСК и показателей ЛПО (в % к контролю) при введении селмевита или димефосфона)

Та же связь между активностью тромбоцитов, содержанием маркеров НВСК и ЛПО выявлена нами и при угнетении ЛПО тиреостатиком. На рис. 7 видно, что снижение активности тромбоцитов и содержания маркеров НВСК выявляется одновременно с замедлением ЛПО и ростом АОП.

Следовательно, неодинаковые по природе воздействия, ограничивающие интенсивность ЛПО и повышающие АОП, сопровождаются снижением интенсивности НВСК.

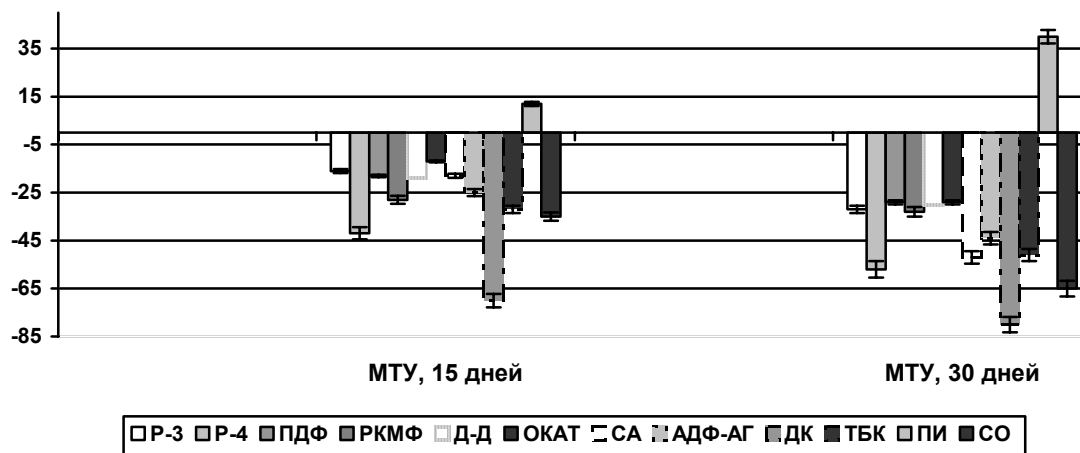


Рисунок 7. Изменения активности тромбоцитов, содержания маркеров НВСК, ЛПО и показателей АОП (в % к контролю) при введении 6-МТУ в течение 15 или 30 дней.

Наши экспериментальные данные, представленные рис. 8, позволяют увидеть, что активация ЛПО в тромбоцитах при введении ацетата свинца усиливает высвобождение фф. P₃ и P₄ и повышает агрегационную активность, и это сопровождается увеличением содержания маркеров НВСК.

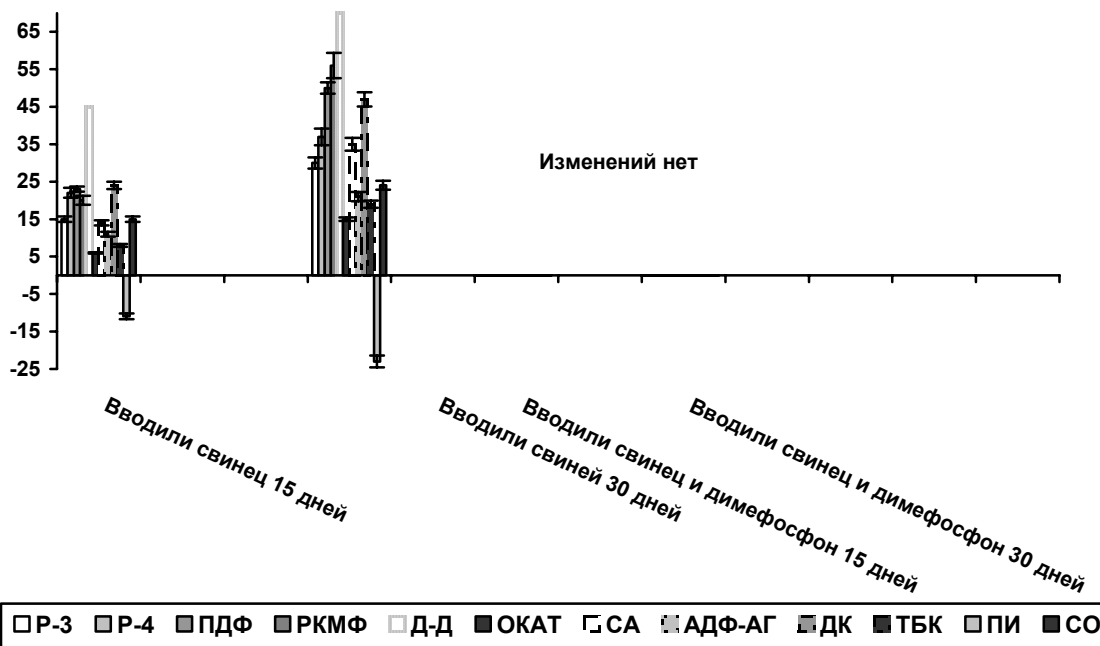


Рисунок 8. Изменения активности тромбоцитов, маркеров НВСК и ЛПО (в % к контролю) при введении свинца или свинца с димефосфоном в течение 15 или 30 дней.

Таким образом, мы экспериментально подтвердили предположение, согласно которому уровень маркеров НВСК связан с интенсивностью ЛПО, и предположение о зависимости между содержанием маркеров НВСК и активностью тромбоцитов.

Исключить, что влияние свинца на гемостаз обусловлено не только воздействием на ЛПО, но и его токсическими свойствами, нам удалось в экспериментах с введением этинилэстрадиола, способного активировать ЛПО [П.Я.Шаповалов и др., 2001, 2003; А.И. Бродер, 2002]. У крыс, получавших этинилэстрадиол 15 и 30 дней, снижался АОП, ускорялась ЛПО, повышалась коагулоактивность тромбоцитов и уровень маркеров НВСК. Одновременное с этинилэстрадиолом введение димефосфона устраняло сдвиги ЛПО и гемостатические сдвиги. Особенностью полученных в этом эксперименте данных, явилось то, что в опытах с этинилэстрадиолом рост содержания продуктов НВСК и коагуляционной активности тромбоцитов обнаруживался на 15-й день в виде тенденции, и стал достоверным на 30-й день введения этинилэстрадиола. Из этого можно сделать вывод, что прирост содержания маркеров НВСК и повышение активности тромбоцитов совпадают во времени с ускорением ЛПО и снижением антиоксидантного потенциала. О связи двух первых явлений с активацией ЛПО свидетельствует отсутствие изменений гемостаза при введении этинилэстрадиола одновременно с антиоксидантом, единственный эффект которого - угнетение ЛПО и рост АОП.

Рассмотренные данные позволили предположить, что изменения интенсивности НВСК и коагулоактивности тромбоцитов обнаруживаются одновременно с изменением скорости ЛПО (ускорение НВСК при активации ЛПО и замедление при её угнетении). Далее мы пытались выяснить последовательность появления этих сдвигов.

Последовательность изменения интенсивности НВСК и прокоагулянтной активности тромбоцитов при воздействиях, модифицирующих ЛПО.

Чтобы установить, какие изменения (НВСК или ЛПО) развиваются раньше, и, следовательно, могут быть причиной последующих сдвигов, изучили последовательность появления этих изменений при воздействиях, модифицирующих ЛПО. Оказалось, что при уменьшенной дозе 6-МТУ и более частом отборе проб изменения ЛПО и гемостаза выявляются неодновременно. Как видно из диаграмм рис. 9, при замедленном развитии гипотиреоза вначале (20-й день введения 6-МТУ) появляются слабые признаки угнетения ЛПО и роста АОП в тромбоцитах, их коагуляционная активность и содержание маркеров НВСК в плазме в этот момент ещё не изменена.

На 25-й день, когда торможение ЛПО и рост АОП усиливаются, обнаруживается тенденция снижения активности тромбоцитов и содержания маркеров НВСК;

На 30-й день замедление ЛПО и рост АОП в тромбоцитах, снижение их коагулоактивности уже достоверны. Достоверно, хотя и в малой степени, падает и содержание маркеров НВСК.

На 35-й день угнетение ЛПО ещё заметнее и продолжается рост АОП, снижение уровня маркеров НВСК также становится заметнее.

Следовательно, изменения при медленно развивающемся гипотиреозе возникают в такой последовательности: угнетение ЛПО и рост АОП → снижение коагуляционной активности тромбоцитов → замедление процессов НВСК.

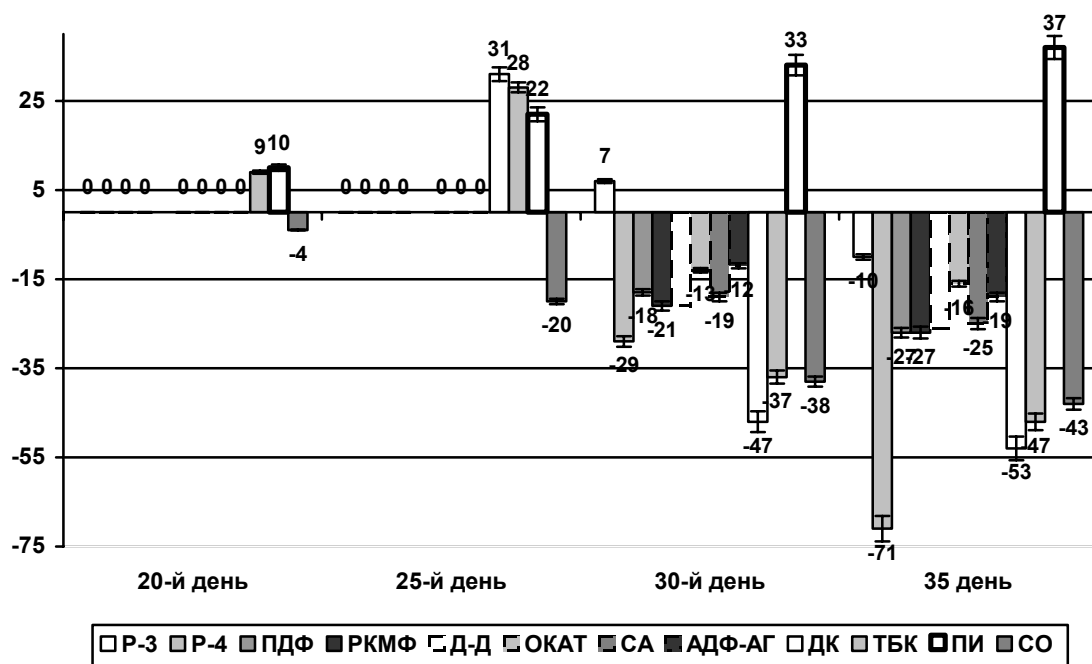


Рисунок 9. Изменения (в % к контрольному) содержания маркеров НВСК, активности тромбоцитов, ЛПО и АОП в них при введении 6-МГУ в уменьшенной дозе (150 мкг/кг) и частом отборе проб. Примечание: знаки 0 на диаграмме – изменений нет.

Анализ результатов, полученных в опытах с угнетением ЛПО уменьшенной дозой димефосфона, выявил в принципе ту же динамику сдвигов, что и при торможении ЛПО тиреостатиком (рис. 10): вначале замедляется ЛПО и растет АОП, затем падает активность тромбоцитов и лишь затем замедляется НВСК.

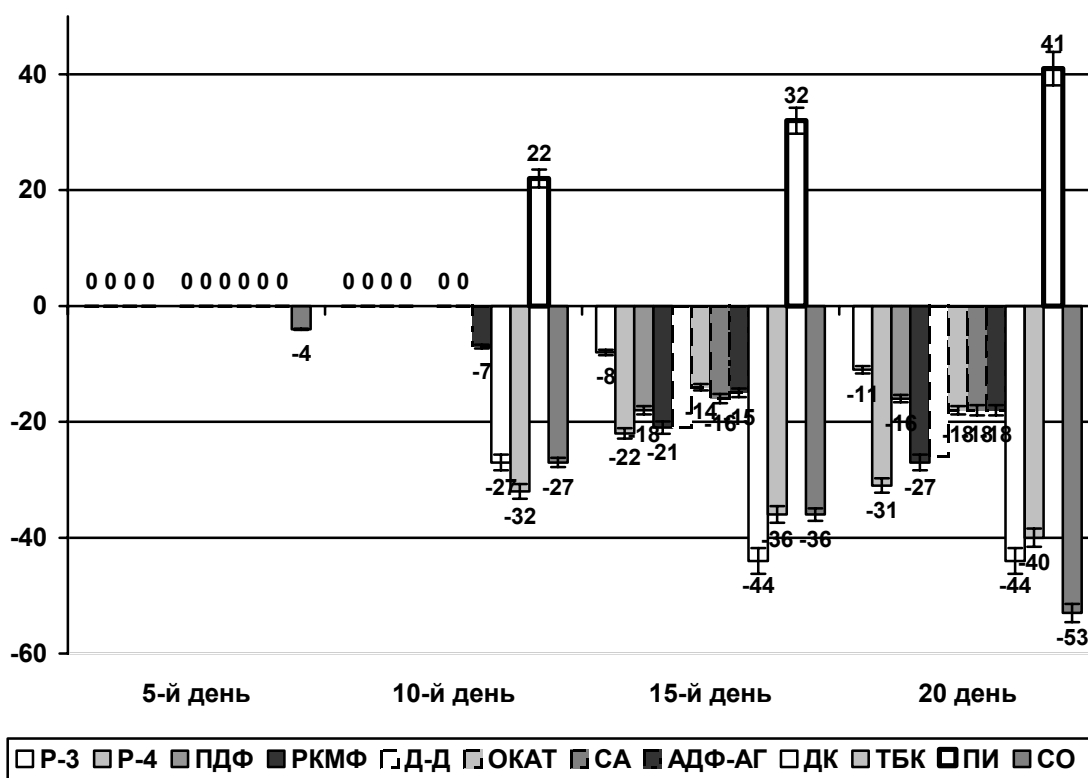


Рисунок 10. Изменения (в % к контрольному) содержания маркеров НВСК, активности тромбоцитов, ЛПО и АОП в них при введении димефосфона в уменьшенной дозе (1г/кг) и частом отборе проб. Примечание: знаки 0 на диаграмме – изменений нет.

Графический анализ данных, полученных при изучении последовательности появления гемостатических сдвигов при активации ЛПО уменьшенными дозами прококсидантов и более частым отбором проб, также показал, что вначале ускоряется ЛПО и падает АОП, а позднее выявляется активация тромбоцитов и НВСК (рис. 11)

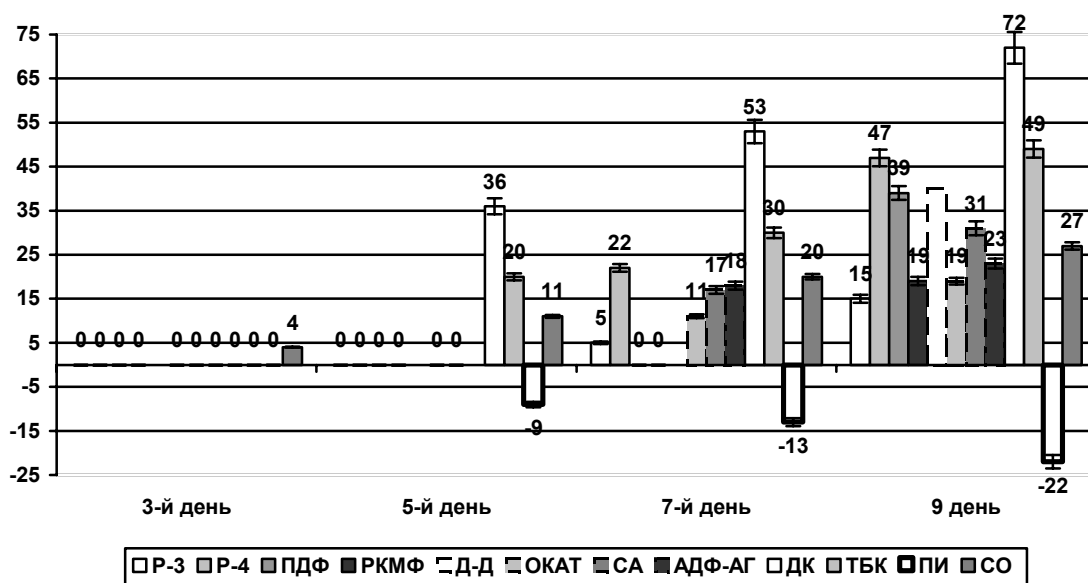


Рисунок 11. Изменения (в % к контрольному) содержания маркеров НВСК, активности тромбоцитов, ЛПО и АОП в них при введении тироксина в уменьшенной дозе (8мг/кг) и частом отборе проб. Примечание: знаки 0 на диаграмме – изменений нет.

Таковы же результаты опытов, проведенных по аналогичной схеме с другим прококсидантом – ацетатом свинца (небольшая доза и частый отбор проб крови - рис. 12).

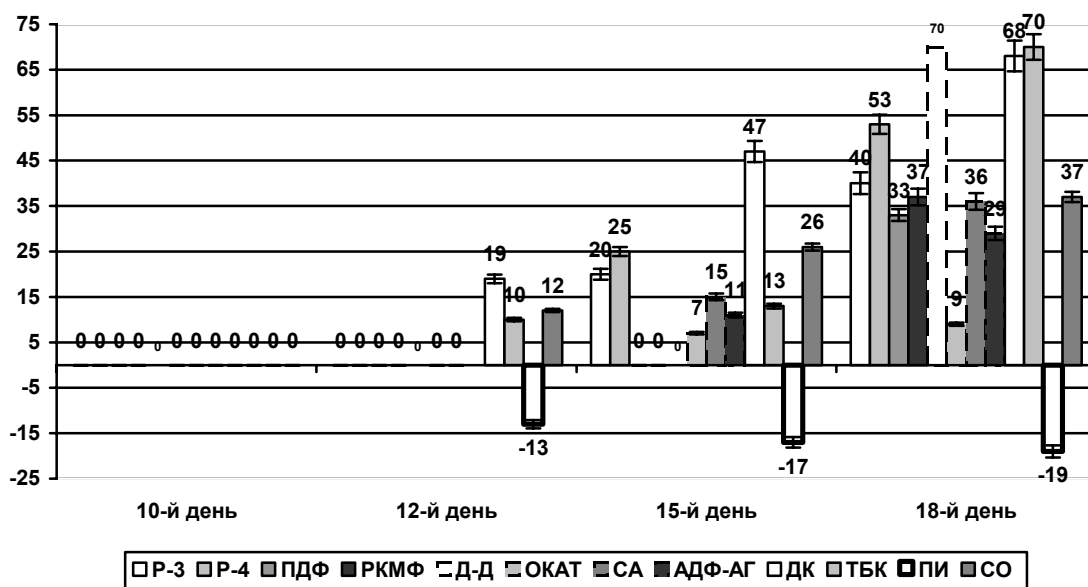


Рисунок 12. Изменения (в % к контрольному) содержания маркеров НВСК, активности тромбоцитов, ЛПО и АОП при введении свинца в уменьшенной дозе (50мг/кг) и частом отборе проб. Примечание: знаки 0 на диаграмме – изменений нет.

Здесь, как в опытах с тироксином, вначале появляются признаки активации ЛПО и снижения АОП, позднее – признаки активации тромбоцитов и ускорения НВСК.

В итоге можно констатировать, что при воздействиях, модифицирующих ЛПО и

АОП в тромбоцитах, в первую очередь изменяется их коагуляционная активность, способность к высвобождению и агрегации. Позднее изменяется интенсивность НВСК, что проявляется сдвигом содержания маркеров ВТФ, который можно расценивать как признак изменения интенсивности НВСК.

Интенсивность сдвигов ЛПО в тромбоцитах, эритроцитах и лейкоцитах, при модификации ЛПО и их соотношение с содержанием маркеров НВСК.

В опытах этой части работы у крыс сопоставляли сдвиги ЛПО и АОП в тромбоцитах, эритроцитах, моноцитах и нейтрофилах при введении про- и антиоксидантов, чтобы оценить участие клеток в связи ЛПО-НВСК, и установить, связаны ли сдвиги ЛПО в клетках со сдвигами уровня маркеров НВСК в плазме.

Использовали в этих опытах воздействия, которые обеспечивают постепенно развивающийся эффект. Это позволяло выявить очередность появления изменений и сопоставить их степень в разных клетках крови при одинаковых условиях опыта. Для повышения достоверности результатов всю совокупность показателей гемостаза и ЛПО определяли у каждой экспериментальной группы крыс.

Для угнетения ЛПО применили 6-МТУ (150 мкг/кг) и селмевит (1 г/кг), для активации - тироксин (8 мг/кг) и свинец (50 мг/кг) – все препараты в уменьшенных дозах.

Эффекты 6-МТУ, выраженные в виде интенсивных величин (табл. 4), свидетельствуют, что раньше других изменений (25-й день) выявляется рост содержания ДК и ТБК-продуктов, удлиняется ПИ и падает СО в тромбоцитах, и менее заметно - в моноцитах.

Таблица 4. Степень снижения (в % от контрольного значения) показателей НВСК, ЛПО и АОП в тромбоцитах (1-я строка), моноцитах (2-я строка), нейтрофилах (3-я строка) и эритроцитах (4-я строка) при введении 6-МТУ. Приведены только статистически достоверные изменения, при их отсутствии - знак 0.

Показатели	20-й день	25-й день	30-й день	35-й день
P ₃	0	0	7	12
P ₄	0	0	36	45
ПДФ	0	0	29	36
РКМФ	0	0	21	28
Д-Д	0	0	25	35
ДК	0	31	47	49
	0	16	41	50
	0	0	23	30
	0	0	19	24
ТБК	0	28	37	49
	0	9	20	30
	0	0	18	30
	0	0	31	34
ПИ	7	25	37	40
	0	6	14	23
	0	0	17	22
	0	0	12	15
СО	5	15	30	43
	0	9	12	16
	0	0	10	16
	0	0	9	10

При этом удлинение ПИ выявляется в тромбоцитах на 20-й день, а на 30-й и 35-й

дни то же обнаруживается уже во всех исследуемых клетках. На всех этапах наблюдений (кроме 20 дня, когда сдвиги ещё отсутствуют), ориентируясь на содержание ДК и ТБК-продуктов, степени уменьшения СО и удлинения ПИ клетки можно выстроить следующим образом:

тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты

Сдвиги содержания маркеров НВСК впервые выявлены на 30-й день, их степень к этому сроку ниже, чем сдвиги показателей ЛПО, и это сохраняется до конца наблюдений (до 35-го дня). Следовательно, тот факт, что изменения ЛПО и АОП в тромбоцитах, как уже показано выше, предшествуют изменениям интенсивности НВСК, подтвердилось. Кроме того, обнаружилось, что по интенсивности изменений ЛПО и АОП первое место принадлежит тромбоцитам, второе - моноцитам, третье - нейтрофилам и четвертое - эритроцитам.

По данным аналогичного эксперимента с ингибитором ЛПО димефосфоном (табл. 5), отличающимся от 6-МТУ механизмом влияния, видно, что и в этих опытах выявлены такие же соотношения величин ЛПО, АОП и содержания маркеров НВСК.

Так, на 5-й день введения димефосфона выявился рост АОП в тромбоцитах, на 10-й день - угнетение ЛПО в них и в моноцитах, дальнейший рост АОП в моноцитах. На 15-й день в тромбоцитах и моноцитах сдвиги усилились, а в нейтрофилах и эритроцитах впервые появились, на 20-й день изменения ЛПО и АОП во всех клетках усилились, будучи максимально выражены в тромбоцитах, в меньшей мере - в моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах.

Таблица 5. Степень снижения (в % от контрольного значения) показателей НВСК (плазма) и ЛПО в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах при введении димефосфона.

Приведены только статистически достоверные изменения, при их отсутствии - знак 0.

Показатели	5-й день	10-й день	15-й день	20-й день
P ₃	0	0	15	15
P ₄	0	12	39	51
ПДФ	0	0	18	31
РКМФ	0	0	27	36
D-Д	0	0	17	33
ДК	0	34	57	64
	0	28	38	53
	0	0	28	36
	0	0	20	25
ТБК	0	30	37	51
	0	12	22	28
	0	0	12	31
	0	0	32	42
ПИ	5	27	37	44
	0	11	23	79
	0	0	15	17
	0	0	12	16
СО	11	18	32	49
	12	14	17	20
	0	0	12	17
	0	0	13	79

Изменения содержания маркеров НВСК происходили в такой последовательности: на 10-й день упал уровень только ф. P₄, на 15-й снизились значения всех остальных маркеров, и это стало еще более заметным к концу опыта.

Таким образом, подтвердилось, что, во-первых, скорость ЛПО и АОП меняются раньше, чем изменяется содержание маркеров НВСК, а, во-вторых, то, что исследованные нами клетки крови по их способности реагировать на введение соединений с антиоксидантными свойствами располагаются в последовательности

тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты.

В этих же клетках показатели состояния ЛПО, АОП и гемостаза при введении малых доз прооксидантов (тироксина или свинца) изменялись с аналогичной динамикой в обратном направлении: вначале ускорение ЛПО и снижение АОП, а позднее увеличение коагулоактивности тромбоцитов и прирост уровня маркеров НВСК. Это четко прослеживается при рассмотрении интенсивных величин, рассчитанных при анализе результатов опытов с введением тироксина (табл. 6). Здесь видно, что на 3-й день его введения сдвиги отсутствуют, на 5-й день выявляется ускорение липидпероксидации в тромбоцитах, моноцитах и эритроцитах, и признаки снижения антиоксидантного потенциала в тромбоцитах и нейтрофилах, рост скорости окисления в тромбоцитах, моноцитах и нейтрофилах. К 7-дню все сдвиги ЛПО и АОП усилились, а на 9-й день стали ещё заметнее (исключение - нейтрофилы и Эритроциты, где отклонение показателей на 9-й день в них практически такое же, как на 7-й день).

Таблица 6. Степень снижения (в % от контроля) показателей НВСК (плазма) и ЛПО в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах при введении тироксина (8.0 мг/кг). Приведены только статистически достоверные изменения, при их отсутствии - знак 0.

Показатели	3-й день	5-й день	7-й день	9-й день
P ₃	0	0	7	15
P ₄	0	0	28	44
ПДФ	0	0	16	53
РКМФ	0	0	0	23
D-D	0	0	0	38
ДК	0	20	44	62
	0	19	29	42
	0	21	29	50
	0	0	33	52
ТБК	0	24	29	61
	0	6	19	31
	0	0	15	21
	0	21	28	32
ПИ	0	13	17	25
	0	0	8	12
	0	6	10	8
	0	0	8	7
СО	0	15	24	32
	0	6	11	12
	0	12	15	17
	0	0	8	39

Рост содержания маркеров НВСК выявился впервые на 7-й день опытов (ПДФ,

РКМФ, фф. P₃ и P₄). Содержание D-димеров не изменилось. На 9-й день эти сдвиги усилились, и увеличилось содержания D-димеров. Таким образом, при введении тироксина вначале активируется ЛПО в клетках крови и падает их АОП, позже повышается содержание маркеров НВСК.

Такие же по динамике и направленности сдвиги выявлены при введении свинца – табл. 7 (отличия касаются только степени изменений), что подтверждает приоритетное значение изменений ЛПО относительно НВСК.

Таблица 7. Степень снижения (в % от контрольной величины) показателей НВСК (плазма) и ЛПО в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах при введении ацетата свинца (50 мг/кг). Приведены только достоверные изменения, при их отсутствии - знак 0.

Показатели	10-й день	12-й день	15-й день	18-й день
P ₃	0	0	19	43
P ₄	0	0	32	61
ПДФ	0	0	17	41
РКМФ	0	0	0	45
D-Д	0	0	50	94
ДК	19	33	50	81
	18	27	45	51
	28	43	65	74
	0	24	33	38
ТБК	9	16	29	64
	8	16	25	35
	16	22	22	25
	0	21	28	36
ПИ	9	14	18	34
	4	6	19	12
	3	4	6	7
	0	6	11	10
СО	8	18	27	37
	6	3	11	12
	0	12	15	17
	8	9	13	13

Таким образом, два прооксиданта в малых дозах постепенно ускоряют ЛПО и снижают АОП в исследованных клетках крови, а содержание маркеров НВСК растет позднее. Механизмы действия свинца и тироксина на метаболизм неодинаковы, но сходны по результативному влиянию на ЛПО и АОП. Это позволяет рассматривать рост содержания маркеров ВТФ при введении прооксидантов, как процесс, зависящий от ускорения ЛПО. И это же подтверждается тем, что снижение интенсивности ЛПО и увеличение АОП сопровождаются снижением содержания маркеров НВСК.

Кроме того, из обсуждаемых наблюдений видно, что активация ЛПО, предшествующая росту интенсивности НВСК не только в тромбоцитах, но и в моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах. Видимо, и эти клетки участвуют в обеспечении связи между ЛПО и НВСК.

Интенсивность НВСК после внутривенного введения крысам клеток, полученных из крови крыс, предварительно подвергшихся воздействию, изменяющему ЛПО. Так как продукты ЛПО, выделяемые клетками при экспозиции *in vitro*,

активируют тромбоциты [И.В.Ральченко, 1998], можно было ожидать, что и в кровотоке эти клетки влияют на коагуляционную активность тромбоцитов, высвобождая в плазму липидпероксиды. Эту возможность мы изучали экспериментально, вводя в кровотоки крыс клетки крови от крыс-доноров, получавших предварительно высокие дозы антиоксиданта или прооксиданта. Взвеси клеток вводили внутривенно в количестве, составляющем $\approx 10\%$ от их расчетного содержания в крови крысы-донора.

Эксперименты с инфузией клеток, взятых у крыс-доноров, получавших димефосфон или ацетат свинца, показали, что введение тромбоцитов от доноров, получавших антиоксидант или прооксидант, т.е. отличавшихся низкой или соответственно высокой активностью ЛПО и угнетением или соответственно ростом АОП, вызвало снижение или прирост уровня маркеров НВСК. Таким же по направленности, но менее значительным был эффект моноцитов, нейтрофилов и эритроцитов.

При рассмотрении диаграмм рис. 14 видно, что инфузия тромбоцитов от доноров, получавших антиоксидант (димефосфон) не намного повысила содержание ПДФ, РКМФ и D-димеров (светлые столбцы против обозначения «Тромбоциты»). Тот же эффект инфузии тромбоцитов от доноров, получавших свинец, заметно выше (темные столбцы против обозначения «Тромбоциты»).

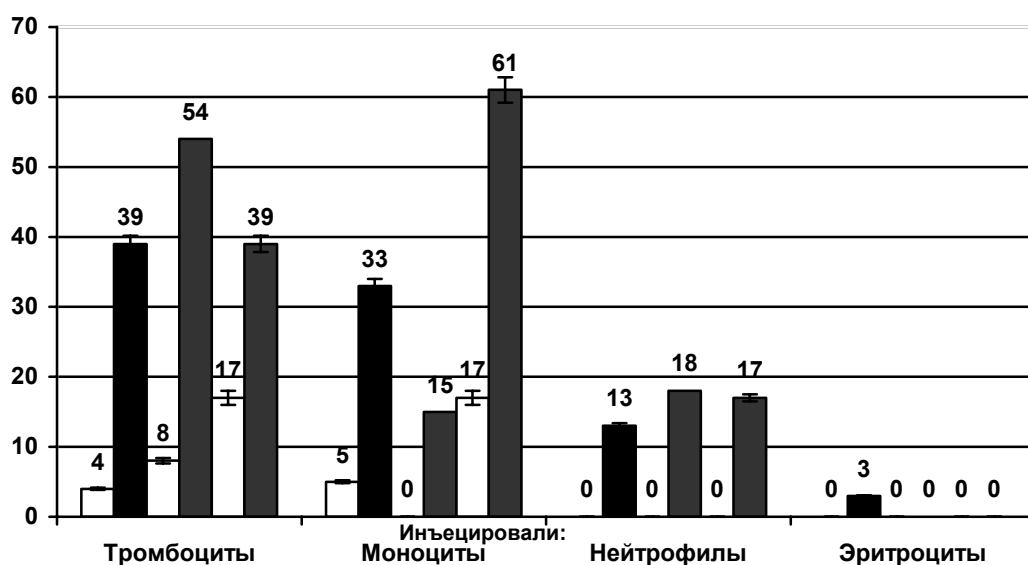


Рисунок 14. Изменения (в % к контролю) содержания ПДФ, РКМФ и D-димеров (столбцы слева направо) в плазме крови крыс через 30 мин после в/в инфузии тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов, взятых у крыс-доноров, получавших антиоксидант (светлые столбцы) или прооксидант (темные столбцы). Знаки 0 указывают на отсутствие достоверных сдвигов.

Инфузия моноцитов от доноров, получавших димефосфон, повысила в небольшой мере содержание ПДФ, не изменила содержания РКМФ и повысила содержание D-димеров. Эффект инфузии моноцитов от доноров, получавших свинец, несравненно выше: на содержание ПДФ - в 6.6 раза, на содержание РКМФ - до 15 против нулевого значения, на содержание D-димеров в 3.6 раза, чем эффект инфузии клеток от доноров, получавших димефосфон. Инфузия нейтрофилов от доноров, получавших димефосфон, вообще не изменила уровня ПДФ, РКМФ и D-димеров.

Сопоставление уровня маркеров НВСК с толерантностью к тромбину после ин-

фузии клеток крови крыс, получавших прооксидант или антиоксидант (рис. 15), выявило следующее:

1. Наиболее заметно снижает толерантность к тромбину инфузия тромбоцитов, в меньшей мере – моноцитов, в ещё меньшей мере – нейтрофилов; толерантность к тромбину после инфузии эритроцитов снижается в малой степени (при введении эритроцитов от доноров, получавших антиоксидант, толерантность к тромбину вообще не изменяется).

2. Толерантность к тромбину снижается после введения клеток от доноров, получавших антиоксидант, в меньшей степени, чем после введения клеток от доноров, получавших прооксидант.

Таким образом, клетки крыс, получавших димефосфон или свинец, располагаются по степени их влияния на толерантность к тромбину в такой же последовательности (тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты), какая найдена нами при оценке в них степени сдвига интенсивности ЛПО и АОП в ответ на введение антиоксидантов или прооксидантов.

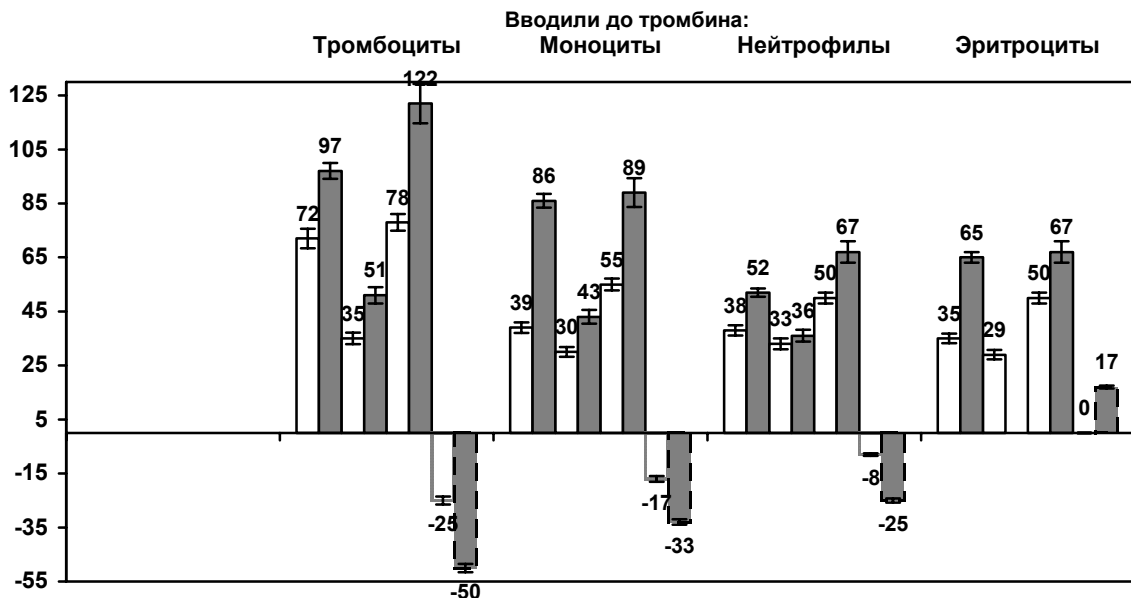


Рисунок 15. Изменения в % к контролю (введение растворителя) содержания ПДФ, РКМФ, D-димеров и толерантности к тромбину (слева направо) через 30 мин после в/в инфузии тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов, взятых у крыс-доноров, получавших антиоксидант (светлые столбцы) или прооксидант (темные столбцы). Знаки 0 указывают на отсутствие достоверных сдвигов.

Следовательно, после введения тромбина растет содержание маркеров НВСК. На фоне предварительной инфузии клеток крови этот эффект тромбина становится выразительнее, а исследованные клетки по их способности усиливать эффект тромбина на НВСК ранжируются так же, как и по степени сдвигов, вызванных модификацией ЛПО, или по степени их влияния на толерантность к тромбину:

тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты.

Учитывая данные о роли тромбоцитов в реализации связи ЛПО-гемостаз, [С.Л.Гальян, 1993; И.А.Дементьева, 1998; И.В.Ральченко, 1998; Н.Б.Баклаева, 2005] мы, выяснив, что и другие клетки участвуют в этом, изучили влияние моноцитов, нейтрофилов и эритроцитов на способность тромбоцитов активировать гемостаз. Для этого

пытались установить 1) меняется ли влияние тромбоцитов на гемостаз и ЛПО при их введении с другими клетками крови, 2) связана ли реакция гемостаза на введение клеток с состоянием ЛПО и АОП у крыс-доноров. Результаты экспериментов, в ходе которых тромбоциты вводили совместно с одним из видов других исследуемых клеток сводятся к следующему (рисунки 16 и 17):

1. Инфузия тромбоцитов, взятых у крыс-доноров, не получавших прооксиданта, вызывает у крыс-реципиентов прирост содержания липидпероксидов, укорочение периода индукции и увеличение скорости окисления, т.е. инфузия тромбоцитов усиливает ЛПО и снижает АОП.

2. Инфузия тромбоцитов вместе с моноцитами усиливает эффект тромбоцитов (сдвиги в том же направлении, но выше, чем у группы, которой вводили только тромбоциты).

3. Инфузия тромбоцитов вместе с нейтрофилами или эритроцитами крыс, не получавших прооксиданта, практически не изменяет этих сдвигов (обнаруживается лишь тенденция).

4. Инфузия тромбоцитов от крыс-доноров, получавших прооксидант, вызывает изменения той же направленности, выраженные значительно сильнее. При инфузии тромбоцитов с моноцитами от доноров, получавших прооксидант, усиливаются. При инфузии тромбоцитов с нейтрофилами или эритроцитами от тех же доноров сдвиги почти не превышают найденных при введении только тромбоцитов от реципиентов, получавших прооксидант, но выше тех, которые вызываются введением той же комбинаций клеток от крыс, не получавших прооксиданта.

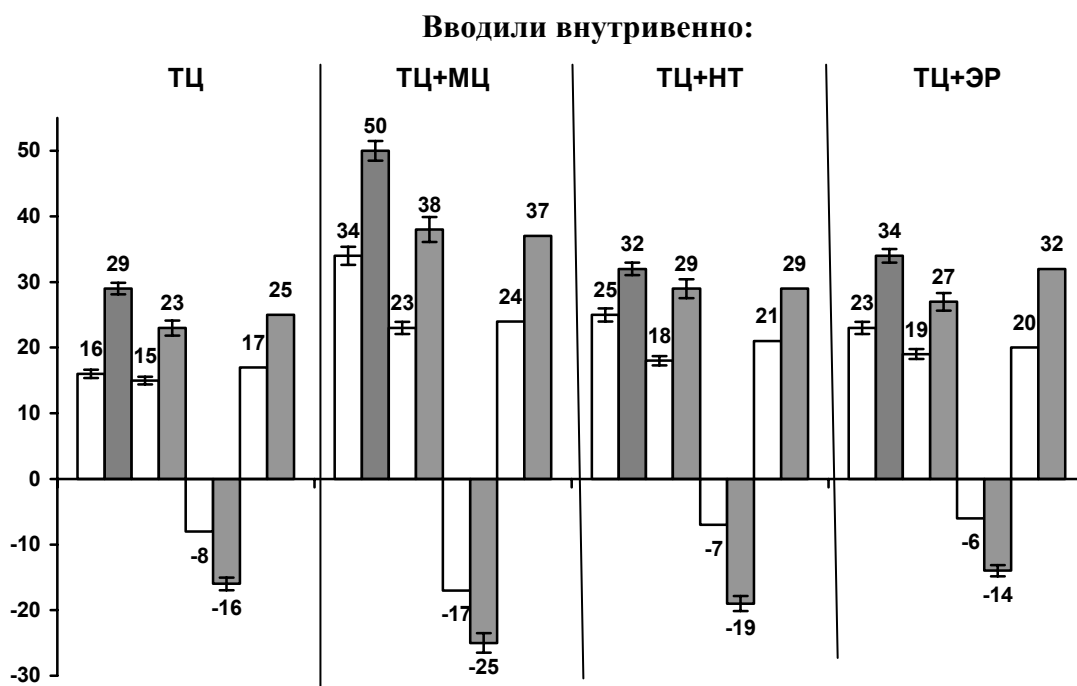


Рисунок 16. Изменения в % к контролю содержания ДК, ТБК, ПИ и СО (столбцы слева направо) через 30 мин после в/в инфузии тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов, взятых у крыс-доноров, не получавших (светлые столбцы) или получавших антиоксидант (темные столбцы). **Обозначения:** ТЦ – тромбоциты, МЦ – моноциты, НТ - нейтрофилы, ЭР – эритроциты.

Вводили внутривенно

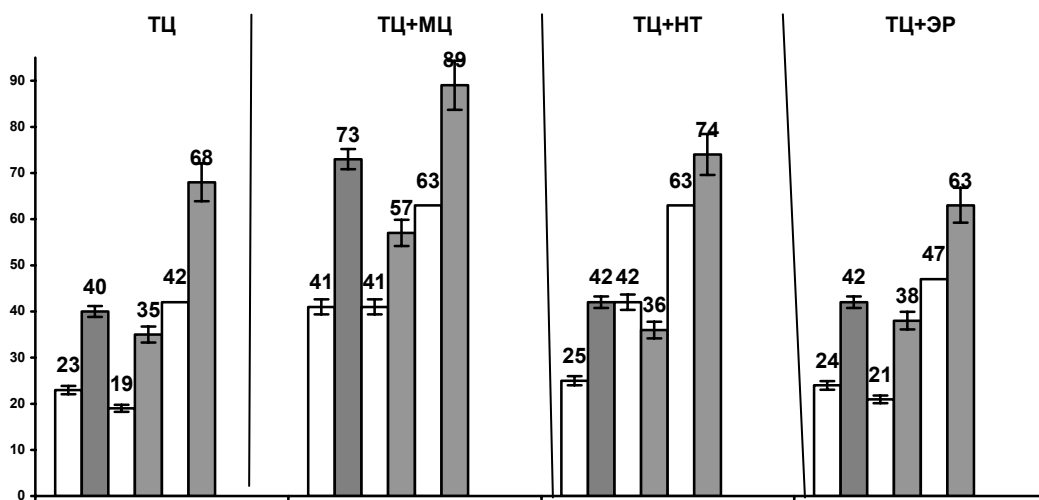


Рисунок 17. Изменения в % к контролю содержания маркеров НВСК – ПДФ, РКМФ и D-димеров (столбцы слева направо) через 30 мин после в/в инфузии тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов, взятых у крыс-доноров, не получавших (светлые столбцы) или получавших прооксидант (темные столбцы).. **Обозначения:** как к рис. 18

Наряду с изменением ЛПО и АОП у подопытных крыс в ответ на введение клеток растет содержание маркеров НВСК. При рассмотрении диаграмм рис. 17 видно, что у крыс, которым вводили тромбоциты, взятые у доноров, получавших прооксидант, прирост содержания маркеров НВСК существенно выше, чем у крыс, которым вводили клетки от доноров, получавших антиоксидант.

Следовательно, инфузия тромбоцитов, в количестве, повышающем их содержание в кровотоке \approx на 10%, увеличивает содержание маркеров НВСК, т.е. ускоряет НВСК. Инфузия моноцитов усиливает вызываемые тромбоцитами изменения, а инфузия нейтрофилов или эритроцитов вызывает лишь тенденцию к усилению эффекта тромбоцитов на НВСК. Прирост содержания маркеров НВСК более значителен при инфузии клеток, взятых у доноров, получавших прооксидант, и выявляется одновременно с активацией ЛПО и снижением АОП. Бóльшим степеням активации ЛПО и снижения АОП сопутствуют более выраженные сдвиги НВСК. Введение клеток, в меньшей мере отражающихся на ЛПО и АОП, менее заметно отражается и на НВСК.

Липидпероксидация в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах, эритроцитах, коагуляционная активность тромбоцитов и содержание маркеров НВСК у больных аденомой ПЖ и у больных ИЗСД. Обследованы больные с двумя существенно различающимися по этиологии и патогенезу заболеваниями - аденомой ПЖ и ИЗСД. Оба заболевания сопровождаются заметной активацией ЛПО и снижением АОП, а также признаками активации гемостаза - повышением общей свертываемости крови и коагулоактивности тромбоцитов [С.Л.Галян и др., 1991, 1993; А.А.Нелаева и др. 1995, 1999, 2003, 2004; Э.Н.Согрин, 2005].

Из больных аденомой ПЖ обследованы лица с показаниями к аденомэктомии, подвергшиеся плановой операции (75 мужчин 55-70 лет, и 55 мужчин того же возраста без поражений ПЖ - контроль). Показаниями к оперативному вмешательству (согласно материалам Совещания Международного согласительного комитета по проблемам ДППЖ-1995) служили: невозможность самостоятельного мочеиспускания уже после одной катетеризации, массивная повторная гематурия или почечная недостаточность, обусловленные гиперплазией ПЖ, камни мочевого пузыря, повторная инфекция мочевыводящих путей, большой дивертикул мочевого пузыря и неблагоприятный прогноз, не позволяющий ожи-

дать достаточного клинического эффекта от консервативного лечения (увеличение средней доли ПЖ, выраженная интравезикальная обструкция, большой объем остаточной мочи), а также неэффективность терапии.

У обследуемых больных аденомой ПЖ мы выявили ускорение ЛПО и снижение АОП в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах, повышение коагулоактивности тромбоцитов и содержания маркеров НВСК. В ходе лечения в пред- и в послеоперационном периоде, наблюдались изменения, динамика которых представлена на рис. 18 в виде степени отклонений (в % от значений в контроле) ЛПО, АОП в тромбоцитах и уровня маркеров НВСК у больных с аденомой ПЖ на всех этапах наблюдения при обычном (традиционном) лечении. Обратило на себя внимание следующее: **1)** росту, сменяющемуся снижением содержания ДК соответствуют рост и затем снижение содержания маркеров НВСК (ПДФ, РКМФ, D-димеров); **2)** росту содержания ДК соответствует укорочение ПИ, а снижению - удлинение ПИ; **3)** укорочению ПИ и последующему его удлинению соответствует рост и последующее снижение содержания маркеров НВСК.

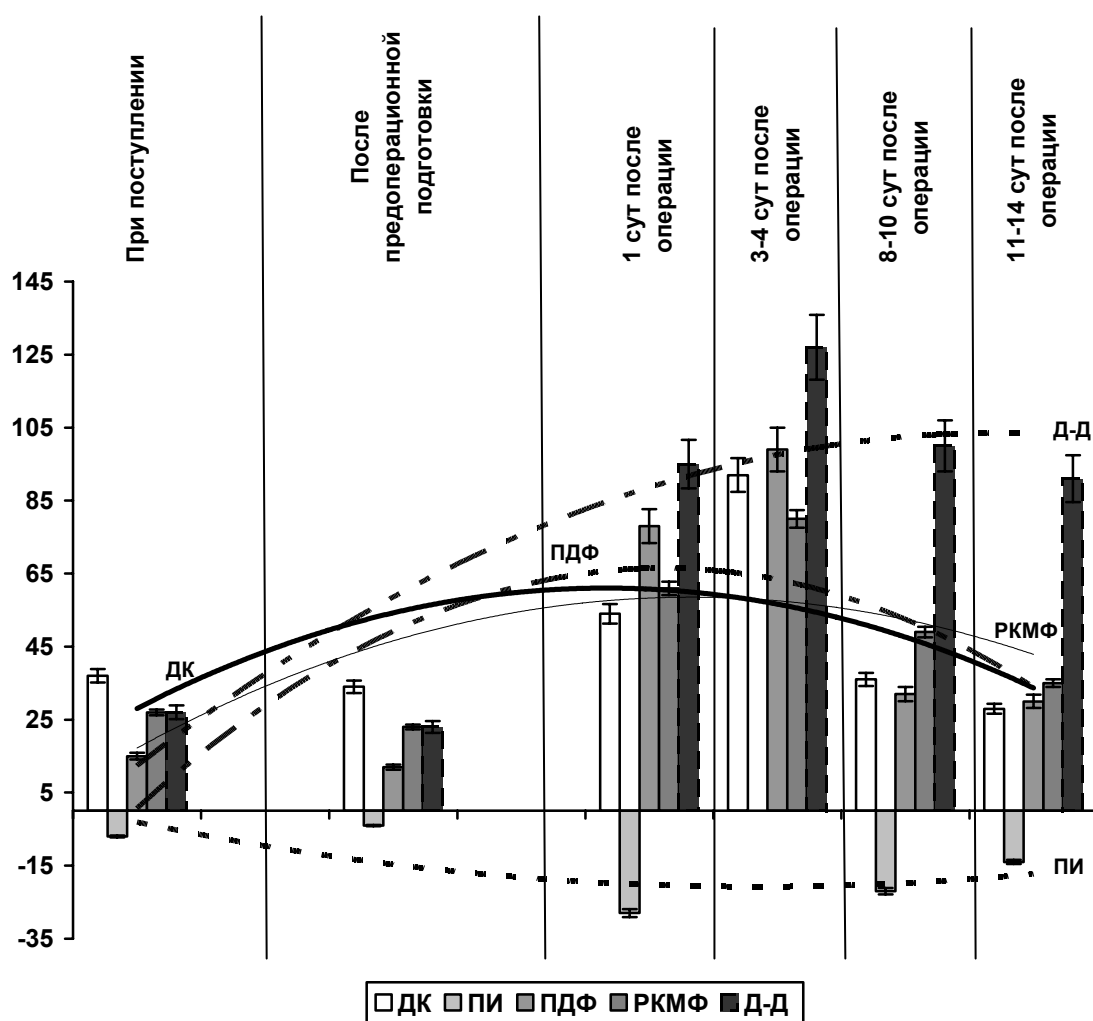


Рисунок 18. Изменения у больных с аденомой ПЖ при обычном лечении (в % к контролю) содержания диеновых конъюгат /ДК/, длительности периода индукции /ПИ/ в тромбоцитах, плазменного содержания ПДФ, РКМФ и D-димеров.

В области построения диаграммы обозначена принадлежность трендов определявшимся показателям (ДК, ПИ, ПДФ, РКМФ и Д-Д)

В моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах, не представленных на рисунке, изменения качественно такие же - активация ЛПО и угнетение АОП выявляется с той же

динамикой. Следовательно, у больных с аденомой ПЖ, как и при многих других патологических состояниях (Т.П.Шевлюкова, 2000; Ю.А.Владимиров, 2005; В.З.Ланкин и др., 2005; В.В.Потанина и др. 2005) ускорена ЛПО и снижен АОП. Эти явления нарастают в ранние сроки после операции, затем ослабевают, но не нормализуются к моменту выписки больного.

Одновременно с ускорением ЛПО и снижением АОП наблюдается интенсификация НВСК, ослабляющаяся в те периоды, когда замедляется ЛПО. Как и ЛПО, НВСК не нормализуется к моменту выписки больных из стационара.

У больных, которые получали селмевит в ходе предоперационной подготовки и после операции (рис. 19), сдвиги ЛПО и АОП, сдвиги содержания маркеров НВСК и активности тромбоцитов также обнаруживались. Однако на всех этапах наблюдений они менее значительны, чем у больных, не получавших антиоксиданта (сопоставить диаграммы рис. 19 и 18), а на 11-14 сут после операции активность тромбоцитов у них существенно приблизилась к донорским значениям, как и содержание маркеров НВСК (содержание ПДФ даже сравнялось со значением у доноров). Содержание ДК оказалось даже ниже исходного уровня, а значение ПИ не отличалось (сдвиг = 0) от величины, найденной у лиц без поражения ПЖ (контроль).

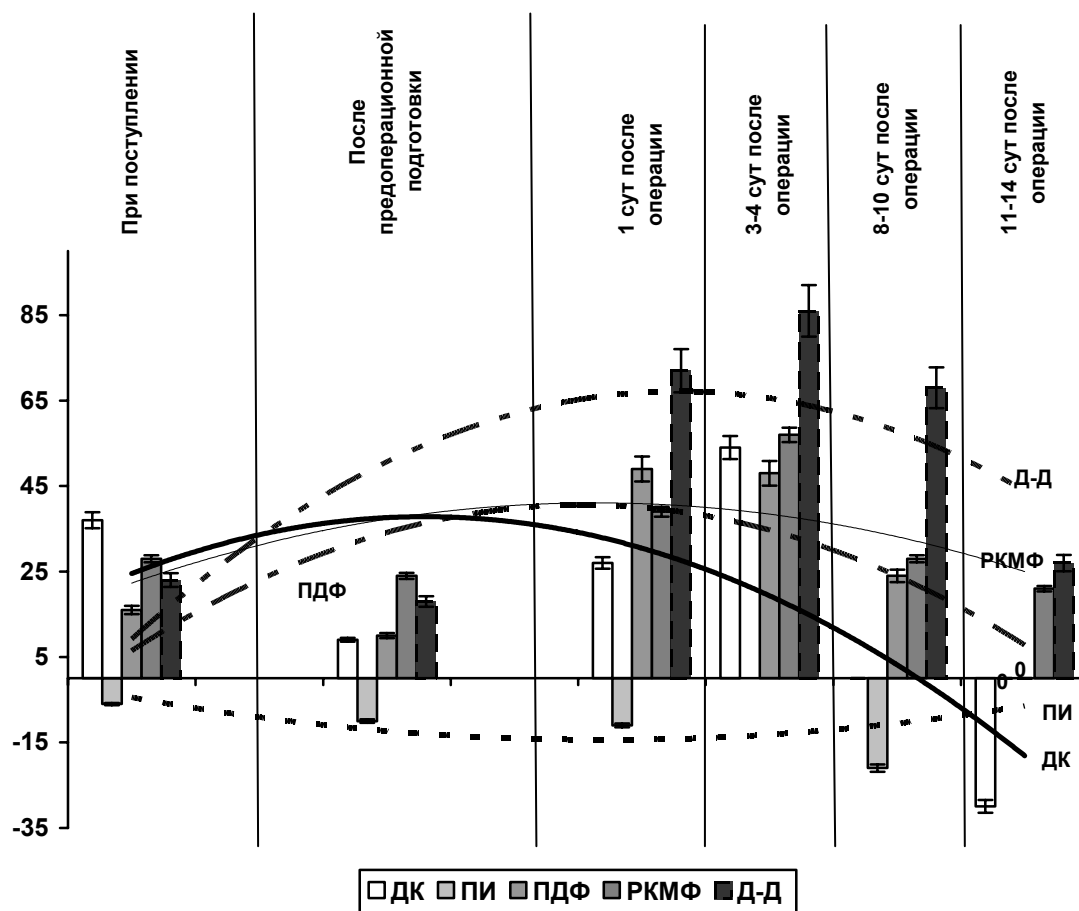


Рисунок 19. Изменения (в % к контролю) у больных с аденомой ПЖ при лечении, дополненном селмевитом, содержания ДК, длительности ПИ в тромбоцитах, плазменного содержания ПДФ, РКМФ и D-димеров.

В области построения диаграммы обозначена принадлежность трендов (ДК, ПИ, ПДФ, РКМФ и Д-Д)

Сопоставив результаты, полученные у больных с аденомой ПЖ при обычном лечении (рис. 18) и лечении, дополненном антиоксидантом (рис. 19), мы можем утвер-

ждать следующее:

1. При аденоме ПЖ с показаниями к оперативному лечению интенсивность ЛПО в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах выше, а АОП ниже, чем у мужчин того же возраста без поражений ПЖ. Наряду с этим у них наблюдается рост коагуляционной активности тромбоцитов и ускоренное НВСК.

2. После оперативного вмешательства изменения усиливаются, постепенно ослабевают в последующем, но сохраняются до выписки больных из стационара. Назначение больным в пред- и послеоперационном периодах селмевита заметно ограничивает все сдвиги, минимизируя и отчасти устраняя их к моменту выписки больных.

3. Гемостатические сдвиги у больных с аденомой ПЖ до и после аденомэктомии коррелируют с изменениями ЛПО и находятся в обратной связи со сдвигами АОП в клетках крови.

Далее совместно с доктором медицинских наук профессором А.А.Нелаевой обследовали 55 больных ИЗСД без сосудистых осложнений в эндокринологическом отделении городской клинической больницы № 2 и в областной клинической больнице. Диагностику ИЗСД проводили на основании критериев ВОЗ (1985 г.) и клинической классификации сахарного диабета, одобренной Всесоюзным научным обществом эндокринологов (Дагомыс, 1991). Средний уровень С-пептида в сыворотке больных составил $0,4 \pm 0,01$ нг/мл. Средний возраст пациентов - $28 \pm 0,5$ лет (29 мужчин и 26 женщин). По социальному положению среди больных преобладали служащие (66,1%), затем рабочие (24,3%), студенты вузов и учащиеся СПТУ (9,6%). Средняя длительность заболевания составила $7,9 \pm 0,5$ г. У 54% заболевание установлено через 2-3 недели после появления первых признаков, у 30% - в первые 10 дней, и у 16% пациентов позднее 1 мес. от начала болезни. Наиболее частая причина заболевания обследуемой группе - вирусная инфекция, затем психоэмоциональный стресс, реже - алкоголь, у 1% пациентов причину заболевания установить не удалось. Отягощенная (по сахарному диабету) наследственность выявлена у 28% больных. По анамнестическим данным у больных наблюдалась склонность к воспалительным заболеваниям: высокая частота заболеваний респираторно-вирусной этиологии - 37%, органов дыхания - у 24% и пиелонефритом - у 15%. Основные жалобы обследованных больных - слабость, полидипсия, полиурия, потеря аппетита, похудание, боль в конечностях, дизурические расстройства, боль в поясничной области, никтурия, снижение работоспособности. При поступлении в стационар состояние у 84% лиц обследуемой группы определено как средней тяжести, у 16% - как тяжелое.

При объективном обследовании слабость, отсутствие аппетита выявлены у 29, бледность кожных покровов у 5, дистрофические изменения волос и ногтей - у 18, сухость и снижение тургора кожи - у 20, дефицит массы тела - у 1%. Изменения сердечной деятельности установлены у 16% больных (приглушенность сердечных тонов и тахикардия покоя). У 3% пациентов обнаружена ортостатическая гипотония, что может быть проявлением диабетической вегетативной кардиальной нейропатии. Повышение артериального давления в пределах 150/90 мм. рт. ст. - у 11% больных. При исследовании желудочно-кишечного тракта и гепато-билиарной системы обнаружено: у 24% пациентов язык обложен белым налетом, у 11% - метеоризм, у 20% - болезненность при пальпации в эпигастральной области, у 1% - болезненность в правом подреберьи, умеренное увеличение печени (пальпаторно) у 7% больных, у 6% пациентов - болезненность по ходу толстого кишечника.

У 37% больных обнаружены функциональные изменения нервно-психического статуса в виде эмоциональной лабильности, раздражительности, плаксивости, у 7% больных наблюдалась склонность к депрессии. У 29% больных выявлена умеренная гипохромная анемия до $3,8 \times 10^{12}$ /л (цветной показатель 1,0). Количество лейкоцитов выше $8,0 \times 10^9$ /л отмечено у 8% больных, ускорение СОЭ выше 15 мм/час - у 24% больных. Результаты исследования мочи на микроальбуминурию экспресс-методом отрицательны у всех обследо-

МЫХ.

При биохимическом обследовании больных найдены изменения содержания мочевины, рост холестеролемии и уровня β -липопротеидов у 24% больных, гипопроteinемия у 21 и гипоальбуминемия – у 14% больных.

Всех больных подвергли кардиографическому обследованию, ультразвуковому обследованию (почки и печень), радиоизотопной ренографии, доплерографии сосудов нижних конечностей.

При электрокардиографическом обследовании выявлено у 24% изменение комплекса QRS, инверсия зубца T, удлинение интервала Q-T, у 7% - синусовая аритмия. Признаки гипертрофии левого желудочка были выявлены у 11%. Электрокардиографические изменения миокарда более выражены у больных с неудовлетворительной компенсацией углеводного обмена. Компенсация течения сахарного диабета и восстановление метаболических параметров сопровождалось достоверным улучшением интервалов между систолами желудочков, регистрируемых по ЭКГ. Офтальмологическое исследование глазного дна при расширенных зрачках исключило у всех больных наличие диабетической ретинопатии.

Содержание гликированного гемоглобина и характеристика гликемии у больных представлены в табл. 8.

Таблица 8. Содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) и уровень гликемии у обследуемых больных ИЗСД

Показатель	Здоровые, n - 36	ИЗСД без осложнений, n - 112
HbA1c, натошак, %	5,55±0,24	8,98±0,33*
Гликемия натощак, ммоль/л	3,8±0,12	10,3±0,5*

Знак * - достоверные отличия

Все пациенты получали заместительную терапию инсулином: однократное введение всей суточной дозы инсулина пролонгированного действия - 26% больных, интенсифицированная базис-болюсная терапия у 21% больных, остальным (51%) - двукратно вводили препараты инсулина средней продолжительности.

Таким образом, клинические наблюдения за обследованными больными позволили установить, что в целом проявления ИЗСД соответствовали данным, представленным в литературе (А.Г.Мазовецкий, В.К.Великов, 1987; М.И.Балаболкин, 1994).

Эффект селмевита изучали, используя двойной слепой контроль. Обследуемых разделили случайным способом на 2 группы: 27 человек (группа сравнения) получали плацебо (таблетки с инертным наполнителем, идентичные селмевиту) и 28 человек (основная группа) получали селмевит. Селмевит (или плацебо) назначали по 1 табл. 2 раза в день в течение 14 дней на фоне традиционного лечения, включавшего инсулинотерапию. До начала лечения и после 14 дней у больных брали пробы крови для оценки показателей НВСК, ЛПО, АОП, коагулоактивности тромбоцитов. Одновременно те же исследования выполняли у здоровых лиц соответствующего возраста и пола (29 доноров – контрольная группа).

На рис. 20 видно, что до начала лечения у больных ИЗСД повышено содержание ДК и сокращен ПИ в тромбоцитах (активирована ЛПО и снижен АОП), изменения в других клетках сходны с таковыми в тромбоцитах.

После двух недель обычной терапии, включающей плацебо, эти сдвиги обнаружили тенденцию к уменьшению (все, хотя и статистически не подтверждающиеся изменения, имеют одинаковую направленность).

У больных, которые получали селмевит, к концу 2-й недели заметно снизилось содержание ДК в тромбоцитах, а ПИ удлинился в сравнении с контролем, что объясняется увеличением АОП под влиянием антиоксиданта. Следовательно, введение в комплекс лечения антиоксиданта оказало нормализующее влияние на

комплекс лечения антиоксиданта оказало нормализующее влияние на ЛПО и несколько повысило АОП. Аналогичную направленность имеют изменения уровня ТБК-продуктов и скорости окисления не только в тромбоцитах, но и в других изучавшихся клетках.

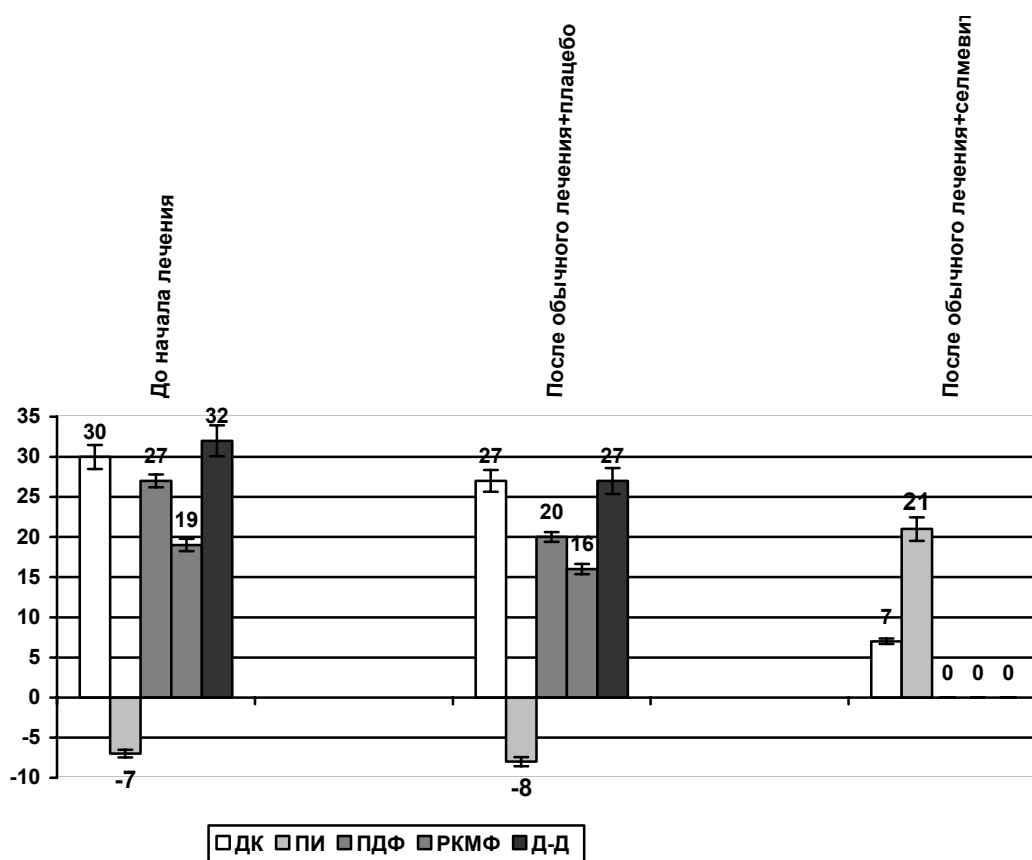


Рисунок 20. Изменения к концу лечения (в % к контролю) содержания ДК и длительности ПИ в тромбоцитах, содержания ПДФ, РКМФ и D-димеров в плазме больных с ИЗСД (столбцы слева направо), получавших селмевит или плацебо на фоне обычного лечения.

Содержание всех исследованных маркеров НВСК до начала лечения у больных группы сравнения достоверно выше, чем в контроле, и оставалось повышенным почти в той же степени после проведения обычной терапии с плацебо. В группе, получавшей селмевит, содержание маркеров НВСК после лечения сравнивалось с контрольными величинами (степень изменения равна нулю).

Следовательно, у больных ИЗСД, как и у больных аденомой ПЖ, наблюдается активация ЛПО и снижение АОП в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах, и это сопровождается ростом содержания маркеров НВСК, как это наблюдалось и у больных аденомой ПЖ. Дополнение обычной терапии достаточно сильным антиоксидантом, ограничивающим активацию ЛПО и практически предупреждающим снижение АОП, сдержало и прирост интенсивности НВСК.

Можно сделать вывод о том, что зависимости, найденные при экспериментальном ускорении процессов перекисного окисления липидов, характерны и для лиц, с патологическими состояниями, сопровождающимися активацией этих процессов.

Заключая, выделим основное.

Создавая в эксперименте условия, вызывающие рост частоты гибели животных

при внутривенном введении тромбина, мы разработали приём, позволяющий за короткий срок на небольшом числе крыс количественно оценивать толерантность к тромбину по степени изменения фибриногенемии после дозированного внутривенного введения тромбина. Используя разработанный приём, установили, что в разнообразных ситуациях (эфирный наркоз, пробуждение от наркоза, кровопотеря, сезонные факторы) увеличению содержания маркеров НВСК сопутствует снижение толерантности к тромбину, а снижению содержания маркеров соответствует рост толерантности к тромбину. Следовательно, существует зависимость между изменением содержания ПДФ, РКМФ, D-димеров, фф. P₃ и P₄ с одной стороны и изменением толерантности организма к тромбину – с другой. Это указало на необходимость и возможность изучать роль клеток крови в реализации связи между ЛПО и плазменным содержанием маркеров НВСК, которое в свою очередь согласуется с величиной толерантности к тромбину, следовательно, отражает степень «готовности» организма к выживанию при воздействиях, сопровождающихся гипертромбинемией.

Сведения о важной роли тромбоцитов в формировании связи между гемостазом и ЛПО и косвенные данные об участии в этом других клеток крови обосновали необходимость уточнить зависимость между интенсивностью ЛПО в тромбоцитах и содержанием маркеров НВСК в плазме и толерантностью к тромбину. Модифицируя ЛПО и АОП в тромбоцитах с помощью разных воздействий (торможение путем введения димефосфона, селмевита или 6-метилтиоурацила, активация тироксином, этинилэстрадиолом или свинцом), установили, что прирост содержания маркеров НВСК и рост активности тромбоцитов совпадают в времени с ускорением ЛПО и снижением АОП. Зависимость между содержанием маркеров НВСК, коагуляционной активностью тромбоцитов с одной стороны, и активацией ЛПО – с другой, подтверждается отсутствием изменений гемостаза при введении прооксидантов (этинилэстрадиола или свинца) одновременно с антиоксидантами (димефосфоном или селмевитом).

Изучение связи между ЛПО и гемостазом в опытах с небольшими дозами модификаторов ЛПО и частым отбором проб для исследований, позволило установить, что при воздействиях, ускоряющих или замедляющих ЛПО, изменения её скорости предшествуют изменениям активности тромбоцитов, а изменения активности тромбоцитов, в свою очередь, предшествуют появлению признаков ускорения НВСК.

На воздействия, активизирующие или снижающие интенсивность ЛПО, реагируют также моноциты, нейтрофилы и эритроциты. Оценив роль этих клеток в обеспечении связи между ЛПО и НВСК, мы установили, что скорость ЛПО и АОП меняется раньше, чем содержание маркеров НВСК, а клетки по способности реагировать на прооксиданты располагаются в последовательности: тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты. Реакция животных на инфузию этих клеток проявляется ростом содержания маркеров НВСК и снижением толерантности к тромбину. Это в наибольшей степени выражено после введения тромбоцитов, в меньшей мере – после введения моноцитов, затем нейтрофилов, и совсем слабо – после введения эритроцитов. Эффект со стороны НВСК на введение клеток значительно, если доноры исследуемых клеток получали прооксиданты, и слабее - если доноры получали антиоксиданты. Следовательно, степень изменения НВСК при инфузии клеток крови пропорциональна содержанию в них липидпероксидов и обратно пропорциональна АОП.

При экзогенной тромбинемии растёт содержание маркеров НВСК, предварительное введение клеток крови усиливает этот эффект тромбина.

По способности усиливать эффект тромбина клетки крови ранжируются так же, как и по степени сдвигов, вызванных модификацией ЛПО, или по их влиянию на

толерантность к тромбину: тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты.

Инфузия тромбоцитов, в количестве, увеличивающем их содержание в кровотоке примерно на 10 %, ускоряет НВСК. Инфузия моноцитов усиливает изменения, вызываемые инфузией тромбоцитов, а одновременная (с тромбоцитами) инфузия нейтрофилов или эритроцитов вызывает лишь тенденцию к ускорению НВСК. Прирост содержания маркеров НВСК значительно больше при инфузии клеток крови доноров, получавших прооксидант, и сопровождается активацией ЛПО при одновременном снижении АОП. Большим степеням активации ЛПО (и снижению АОП) сопутствуют более выраженные сдвиги уровня маркеров НВСК. Введение клеток, слабее отражающихся на ЛПО и АОП, менее заметно влияет и на интенсивность НВСК.

Градация клеток по степени их участия в связи между ЛПО и НВСК, свидетельствует ещё и о зависимости между интенсивностью ЛПО и НВСК.

У больных с аденомой ПЖ и у больных с ИЗСД - заболеваниями, протекающих с активацией ЛПО и снижением АОП в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах - повышено содержание маркеров НВСК. Дополнение обычной терапии антиоксидантом, ограничивающим активацию ЛПО и практически предупреждающим снижение АОП, ограничивает и прирост интенсивности НВСК.

Видимо, зависимости, найденные при экспериментальной модификации интенсивности ЛПО, характерны и для лиц, с патологическими состояниями, сопровождающимися активацией ЛПО. На этом основании можно считать перспективным изучение эффективности применения антиоксидантов в дополнение к обычной терапии состояний, протекающих с явлениями гипероксидации и связанным с этим ускорением НВСК, которое, как показано нами экспериментально, сопровождается снижением толерантности к тромбину. В качестве таких средств могут использоваться, в частности, витамины с антиоксидантной активностью, в особенности витаминные комплексы, отличающиеся выраженным антиоксидантным действием.

Весьма вероятно, что это скажется на частоте и выраженности сопровождающих гипероксидацию тромбогеморрагических осложнений.

ВЫВОДЫ

1. Определение степени снижения фибриногенемии в плазме при дозированном внутривенном введении тромбина позволяет в опытах с малым числом животных (крыс) количественно оценить толерантность к тромбину; результаты, полученные этим приемом, отличающимся экономичностью и специфичностью, согласуются с результатами известного способа, основанного на учете частоты выживания животных после введения тромбина в кровотоки.

2. Между толерантностью к тромбину, устанавливаемой предложенным способом, и плазменным содержанием маркеров НВСК в разнообразных экспериментальных ситуациях существует обратная зависимость: рост толерантности к тромбину сопровождается снижением содержания маркеров НВСК, снижение толерантности к тромбину сопровождается ростом содержания маркеров НВСК.

3. При активации ЛПО и снижении АОП тромбоцитов растет их коагуляционная активность, способность к агрегации и высвобождению фф. P₃ и P₄; при снижении ЛПО и увеличении АОП тромбоцитов их коагуляционная активность, способность к агрегации и высвобождению фф. P₃ и P₄ умеренно ограничивается.

4. Активация (или угнетение) ЛПО и сопутствующее ей снижение (или повышение) АОП, сопровождаются снижением (соответственно повышением) интенсивности внутрисосудистого свертывания крови.

5. Изменение ЛПО и АОП в тромбоцитах предшествует (во времени) изменениям их активности, которые в свою очередь предшествуют изменениям интенсивности внутрисосудистого свертывания крови.

6. Одновременно с изменениями ЛПО и АОП в тромбоцитах при воздействии про- и антиоксидантов, в том же направлении изменяется ЛПО и АОП в моноцитах, нейтрофильных лейкоцитах и эритроцитах.

7. Инфузия тромбоцитов, моноцитов, нейтрофилов или эритроцитов здоровым животным в количестве, повышающем их содержание в кровотоке примерно на 10 %, ускоряет внутрисосудистое свертывание крови и снижает толерантность к тромбину. Эти эффекты усилены при инфузии тромбоцитов доноров, получавших прооксидант, и ослаблены при инфузии тромбоцитов доноров, получавших антиоксидант. По степени влияния на ЛПО и на толерантность к тромбину клетки располагаются в последовательности «тромбоциты > моноциты > нейтрофилы > эритроциты».

8. Инфузия тромбоцитов одновременно с моноцитами, нейтрофилами или эритроцитами повышает степень изменений НВСК, вызываемых тромбоцитами; более значим эффект, вызываемый инфузией клеток от доноров, получавших прооксидант, и ослаблен при инфузии клеток от доноров, получавших прооксидант.

9. У лиц с заболеваниями, сходными лишь в том, что они сопровождаются гипероксидацией и гемостатическими сдвигами (аденома ПЖ и ИЗСД), повышено содержание липидпероксидов в тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах, ускорено внутрисосудистое свертывание крови. Эти изменения ослабляются при обычном лечении и особенно заметно при лечении, дополненном комплексом витаминов с антиоксидантными свойствами (селмевитом).

Практические предложения

1. Можно рекомендовать предложенный нами способ «Определение толерантности к тромбину» для экспериментальной оценки влияния разного рода воздействий на степень «готовности» организма к ответу на сдвиги, создающие или повышающие угрозу внутрисосудистого свертывания крови.

2. Целесообразно контролировать у больных с патологией, сопровождающейся активацией свободнорадикальных процессов, содержание плазменных маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген.

3. Имеет смысл расширить исследования, направленные на уточнение характера связи между интенсивностью липидпероксидации в клетках крови, особенно в тромбоцитах, и содержанием маркеров внутрисосудистого свертывания крови.

Печатные работы по теме диссертации

В журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов докторских диссертаций

1. Способ определения толерантности животных к тромбину / А.Ш.Бышевский, Л.В.Михайлова, ... **Р.Г.Алборов** и др // Патент № 2219546, приоритет от 04.05.2000, зарегистрирован в Госреестре изобретений РФ **20.12.2003**

2. Оксидативный стресс и тромбоцитарно-коагуляционный гемостаз у больных сахарным диабетом типа 1 с диабетической нефропатией / Ю.В.Нелаева, А.Ш.Бышевский, ... **Р.Г.Алборов** и др // Сахарный диабет. - 2003. - 3. - С. 10-13.

3. Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови при изменениях липопероксидации / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов** и др.) // Вестник Тюменского Государственного университета - 2003. - 5. - С.248-255

4. Влияние селмевита на мембраны и коагулоактивность тромбоцитов у больных сахарным диабетом / **Р.Г.Алборов** // Сахарный диабет. - 2004. - 3. - С. 38-40

5. Витамин и антиоксиданты в коррекции гемостатических сдвигов при оксидативном стрессе / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов** и др. // International J. on immunorehabilitation. - 2004. - 6. - 1. - Р.38
6. Фармакологическая реабилитация после медицинского аборта / В.А.Полякова, И.А.Карпова, ... **Р.Г.Алборов** и др. // International J. on immunorehabilitation - 2004. - 6. - 1. - Р.110
7. Зависимость толерантности к тромбину от взаимодействия тромбин-фибриноген / **Р.Г.Алборов** // Аллергология и иммунология. - 2004. т. 5. - 3. - С. 500-501
8. Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и липопероксидация / А.Ш.Бышевский, М.К.Умутбаева, **Р.Г.Алборов** // Гематол. и трансфузиол. - 2004. - 49. - 5. - С. 39-43
9. Липопероксидация и гемостаз: взаимодействие и механизмы / Г.А.Сулкарнаева, П.Я.Шаповалов ... **Р.Г.Алборов** и др. // Аллергология и иммунология. - 2004. - 5. - 3. - С.501-502
10. Гемостатические сдвиги при аорто-бедренном и бедренно-подколенном шунтировании у больных облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей, их коррекция селмевитом / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, **Р.Г.Алборов** и др. - Хирургия. - 2004. - 10. - С.38-41
11. Коррекция антиоксидантами взаимодействия тромбин-фибриноген при активации гемостаза у женщин / А.Ш.Бышевский, В.А.Полякова, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Вестник Тюменского Государственного университета. - 2004. - 3. - С.120-125
12. Клетки крови – фактор связи между липопероксидацией и взаимодействием тромбин-фибриноген / **Р.Г.Алборов** // Экология человека. - 2005. - 1. - С. 13-16
13. Плазменное содержание индикаторов взаимодействия тромбин-фибриноген как показатель толерантности к тромбину / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2005. - 1. - С. 40-46.
14. Влияние комбинации витаминов-антиоксидантов на гемостаз при экспериментальной гипероксидации / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов**, и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2005. - 3. - С. 34-37
15. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита в клетках крови здоровых людей разного возраста / В.А.Полякова, Е.А.Винокурова .. **Р.Г.Алборов** и др. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2004. - 9. - С.81-81
16. Постоянное внутрисосудистое свертывание крови при изменении интенсивности липопероксидации / А.Ш.Бышевский, М.К.Умутбаева, **Р.Г.Алборов** // Биомедицинская химия. - 2005. - 51. - 4. - С.424-431
17. Эритроциты и лейкоциты в реализации связи между перекисным окислением липидов и гемостазом / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян ... **Р.Г.Алборов** и др. // Биомедицинская химия. - 2006 (принято в печать)
18. / **Р.Г.Алборов** // Вестник Тюменского Государственного университета – 2006. - 5 - С.

Другие медико-биологические журналы

19. Гемостаз при гипертиреозе в зависимости от интенсивности липопероксидации в тромбоцитах / А.Ш.Бышевский, Г.А.Левин, ... **Р.Г.Алборов** и др.). // Тромбоз, гемостаз и реология (Москва). - 2001.- 2 (6). - С. 24-26
20. Эффекты ингибиторов превращения арахидоновой кислоты в зависимости от интенсивности липопероксидации / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов** и

др. // Тромбоз, гемостаз и реология (Москва). - 2001. - 1 (5). - Приложение. - С. 77-78

21. Влияние арахидоновой кислоты на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови / **Р.Г.Алборов** // Научн. вестник Тюменской Государственной медицинской академии. - 2003. - 2. - С. 24-24

22. Влияние левоноргестрела на постоянное внутрисосудистое свертывание крови в зависимости от интенсивности липопероксидации / С.Л.Галян, И.А.Аптекарь, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Научн. вестник Тюменской Государственной медицинской академии. - 2003. - 2. - С. 31-32

23. Постоянное внутрисосудистое свертывание крови при изменении интенсивности липопероксидации / **Р.Г.Алборов** // Успехи современного естествознания (Москва). - 2003. - 6. - С. 37

24. Постоянное внутрисосудистое свертывание крови и липопероксидация у больных со средней степенью тяжести диффузного токсического зоба / С.Л.Галян, И.А.Аптекарь, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Научн. вестник Тюменской Государственной медицинской академии Спецвыпуск «Биоантиоксиданты». - 2003. - 1. - С.84-85

25. Влияние ингибиторов превращений арахидоновой кислоты на постоянное внутрисосудистое свертывание крови и липопероксидацию / **Р.Г.Алборов** // Успехи современного естествознания (Москва). - 2003. - 10. - С. 49.

26. Внутрисосудистое свертывание крови при введении ингибиторов фосфолипазы / С.Л.Галян, М.К.Умутбаева ... **Р.Г.Алборов** и др. // Научн. вестник Тюменской Государственной медицинской академии. - 2003. - 2. - С. 32.

27. Влияние ингибиторов циклооксигеназы на уровень маркеров внутрисосудистого свертывания крови / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Научн. вестник Тюменской Государственной медицинской академии. Спецвыпуск «Биоантиоксиданты». - 2003. - 1. - С.86

28. Клетки крови - фактор связи липопероксидации и постоянного внутрисосудистого свертывания / **Р.Г.Алборов** // Успехи современного естествознания (Москва). - 2004. - 2. - С. 24-24

29. Щитовидная железа, гемостаз и перекисное окисление липидов / А.Ш. Бышевский, П.Я. Шаповалов, ... **Р.Г. Алборов** и др. // Забайкальский медицинский вестник (Чита). - 2004. - 4. - С. 24-28.

30. Последовательность появления сдвигов липопероксидации в тромбоцитах, эритроцитах и лейкоцитах при воздействии прооксидантов и антиоксидантов / **Р.Г.Алборов** // Медицинская наука и образование Урала (Тюмень). - 2004. - 3-4. - С. 13-17

31. Процессы липидпероксидации сопряжены с взаимодействием тромбин-фибриноген / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, **Р.Г.Алборов** и др. // Медицинская наука и образование Урала (Тюмень). - 2004. - 3-4. - С. 187-188

32. Зависимость эффекта ингибиторов агрегации тромбоцитов от интенсивности липопероксидации / Г.А.Сулкарнаева, И.Е.Попова, П.Я.Шаповалов, **Р.Г.Алборов** // Сб. научных работ «Естествознание и гуманизм» (Томск): СНМУ. - 2005. - 2. - 1 - С. 29-31

33. Зависимость между антиоксидантными свойствами витаминов и их влиянием на толерантность к тромбину / **Р.Г.Алборов**, С.Л.Галян, А.Ш.Бышевский и др. // Медицинская наука и образование Урала (Тюмень). - 2005. - 3. - С.64-66

Монографии и главы в них

34. Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов / А.Ш.Бышевский, М.К.Умутбаева, **Р.Г.Алборов** // Москва: Медицинская книга. - 2004. - 79 с

35. Связь гемостаза с перекисным окислением липидов / А.Ш.Бышевский, М.К.Умутбаева, **Р.Г.Алборов** / Москва: Медицинская книга. – 2003. 80 с.
36. Влияние антиоксидантов на гемостаз в экспериментальных условиях. Глава в монографии «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов» / **Р.Г. Алборов** // Москва: Медицинская книга. – 2004. 80 с. - С. 10-25
37. Зависимость между постоянным внутрисосудистым свертыванием крови и процессами липопероксидации / **Р.Г.Алборов** // Глава в монографии «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов». Москва: Медицинская книга. – 2004. – 80 с. - С. 31-36.
38. Липопероксидация при угнетении или активации постоянного внутрисосудистого свертывания крови в эксперименте / Е.А.Винокурова, М.К.Умутбаева, Р.Г.Алборов // Глава в монографии «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов». Москва: Медицинская книга. – 2004. – 80 с. - С. 26-31
39. Роль тромбоцитов в гемостазе / **Р.Г.Алборов** // Глава в монографии «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». Москва: Медицинская книга. – 2003. – 95 с. - С. 15-26
40. Гемостаз и гипертиреоз / **Р.Г.Алборов** // Глава в монографии «Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов». Москва: Медицинская книга. – 2004. – 80 с. - С. 51-55.
41. Участие эритроцитов в гемостазе / М.К.Умутбаева, **Р.Г.Алборов**, А.Ю.Рудзевич // Глава в монографии «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». Москва: Медицинская книга. – 2003. – 95 с. - С. 27-30
42. Лейкоциты и гемостаз / **Р.Г.Алборов** // Глава в монографии «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». Москва: Медицинская книга. – 2003. – 95 с. - С. 31-40.
43. Гипертиреоз, гемостаз и перекисное окисление липидов / **Р.Г.Алборов** // Глава в монографии «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». Москва: Медицинская книга. – 2003. 95 с. - С. 50-59.
44. Связь перекисного окисления липидов и гемокоагуляционных сдвигов / С.Л.Галян, М.К.Умутбаева, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Глава в монографии «Связь гемостаза с перекисным окислением липидов». Москва: Медицинская книга. – 2003. – 95 с. - С. 60-67
45. Лабораторные данные при основных терапевтических заболеваниях / А.Ш.Бышевский, М.К.Умутбаева, А.Ю.Рудзевич, **Р.Г.Алборов** // Глава 1, часть VIII, в книге «Внутренние болезни». Тюмень: Академия, 2004. – 567 с. - С. 646-674
46. Краткие сведения о роли тканевого фактора в регуляции свертывания крови / С.Л.Галян, П.Я.Шаповалов, ... **Р.Г.Алборов** и др. // Глава в монографии «О роли щитовидной железы в регуляции гемостаза». Москва: «Медицинская книга». – 2006. 95 с - С.7-12
47. Связь липидпероксидации и ВТФ в условиях эксперимента / **Р.Г. Алборов** // Глава в монографии «Витамины, внутрисосудистое свертывание крови и липидпероксидация». Москва: Медицина - 2006. - 95 с 48-53
48. Внутрисосудистое свертывание крови при аденомэктомии предстательной железы / **Р.Г.Алборов** / Глава в монографии «Витамины, внутрисосудистое свертывание крови и липидпероксидация». Москва: Медицина. - 2006. - 95 с - С. 57-59

Материалы съездов, симпозиумов и конференций

49. Влияние фемостона на гемостаз у женщин перименопаузального периода с гипофункцией щитовидной железы. Коррекция гемостатических сдвигов компливитом /

И.Е. Городничева, М.К. Умутбаева, **Р.Г. Алборов**)

50. // Материалы 5-го Российского научного форума «Охрана здоровья матери и ребенка» / **Р.Г. Алборов** // Москва, 2003. – С. 65 //

51. Влияние левоноргестрела на постоянное внутрисосудистое свертывание крови, модифицируемое введением антиоксидантов / **Р.Г. Алборов** // Материалы международного научного симпозиума «Югра-гемо». Х.-Мансийск: РАМН, ЮУНЦ РАМН, 2004. – С. 61-63.

52. Роль эритроцитов и лейкоцитов в реализации связи гемостаз-липопероксидация, опосредуемой тромбоцитами / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, ... **Р.Г. Алборов** и др // Там же. – С. 8-11)

53. Внутрисосудистое свертывание крови при введении половых стероидов / **Р.Г. Алборов** // Материалы конф. «Актуальные вопросы экспресс-диагностики в хирургии», посвященной 60-летию проф. И.И. Деметьевой. Москва, 2003. – С. 14-14.

54. Клетки крови как факторы, формирующие зависимость «гемостаз-липопероксидация» / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, ... **Р.Г. Алборов** и др. // Там же – С. 20-21

55. Прокоагулянтная активность эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и постоянное внутрисосудистое свертывание крови / **Р.Г. Алборов** // Материалы Всероссийской научн. конф. молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины. Тюмень: Минздрав РФ, ТГМА, 2003. – С. 23.

56. Клетки крови – фактор связи липопероксидации и постоянного внутрисосудистого свертывания / **Р.Г. Алборов** // Материалы межрегиональной конф. биохимиков Урала, Западной Сибири и Поволжья «Биохимия: от исследования молекулярных механизмов до внедрения в клиническую практику и производство». Оренбург, 2003. С. 152-154.

57. О механизмах взаимозависимости гемостаза с перекисным окислением липидов / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, ... **Р.Г. Алборов** и др. // Там же. – С. 152-154.

58. The communication between lipidperoxidation and continuous intravascular cogulation of the blood / A. Bishevsky, S.L. Galan, .. **R.G. Alborov** e.a. // International congress on thrombosis, haemostasis, vascular pathology: St. Peterburg, 2004. – P. 9

59. Blood cells in realization of communication between lipoperoxidation and constant intravascular coagulation of the blood / **R.G. Alborov** // Там же. – P. 5

60. Гемостаз и липопероксидация: механизмы связи / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, **Р.Г. Алборов** и др. // В кн. Перспективы развития амбулаторно-поликлинической помощи в Тюмени. Тез. докл. II городской научно-практической конф.. – Тюмень: Академия. – 2004. – С. 48-49

61. Коррекция селмевитом гемостатических сдвигов при некоторых хирургических вмешательствах / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, **Р.Г. Алборов** и др. // Материалы 2-й Всероссийской конф. с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии. М. – 2005. – С. 47-48.

62. Роль клеток крови в липидпероксидации / С.Л. Галян, А.Ш. Бышевский, ... **Р.Г. Алборов** и др. // В сб. «Новая идеология в единстве фундаментальной науки и клинической медицины» Самара. – 2005. – С. 380-384

63. Коррекция гемостатических сдвигов в акушерстве, хирургии и эндокринологии антиоксидантами / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян ... **Р.Г. Алборов** и др. // Матер. Международного симпозиума «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки». – Тюмень. – 2005. – С. 249-253

Использованные сокращения

АДФ-АГ	АДФ-индуцируемая агрегация
АОП	антиоксидантный потенциал
ЗТФ	взаимодействие тромбин-фибриноген
Д-Д	Д-димеры
ДК	ценовые конъюгаты
ИЗСД	Инсулинзависимый сахарный диабет
ЛПО	липидпероксидация
β-МТУ	β-метилтиоурацил
ДФ	Продукты деградации фибрина
ГЖ	предстательная железа
И	период индукции
РФМК	Растворимые фибринмономерные комплексы
СА	спонтанная агрегация
СО	скорость окисления
ГБК	ГБК-продукты (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой)
Ф. (фф.)	фактор (факторы)

АЛБОРОВ
Робинзон Григорьевич

**Роль клеток крови в связи
между толерантностью к тромбину,
содержанием в кровотоке продуктов взаимодействия
тромбин-фибриноген и липидпероксидацией**

03.00.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Подписано в печать 11.04.2006 г. Тираж 100 экз.
Отпечатано в издательском центре «АКАДЕМИЯ»
Лицензия ИД № 05351 от 10.07.2001 г.
Тюмень, ул. Одесская, 50