

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ТЮМЕНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО  
АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ  
РАЗВИТИЮ»

На правах рукописи

**ШИДИН Александр Владимирович**

**ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА Е НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ВЗАИМОДЕЙСТ-  
ВИЯ ТРОМБИН-ФИБРИНОГЕН, ТОЛЕРАНТНОСТЬ  
К ТРОМБИНУ И ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ**

(экспериментальное исследование)

03.00.04 - биохимия

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук  
проф. П.Я.Шаповалов

**Тюмень - 2007**

**Работа выполнена в ГОСУДАРСТВЕННОМ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ УЧРЕЖДЕНИИ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ТЮМЕНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»**

**Научный руководитель: доктор медицинских наук профессор Шаповалов Петр Яковлевич.**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук профессор Соловьев Владимир Георгиевич

доктор медицинских наук профессор Шевлюкова Татьяна Петровна

Ведущее учреждение: ГОУ ВПО «Башкортостанский государственный медицинский университет Росздрава»

Защита состоится 27 октября 2007 г в 9 часов на заседании диссертационного Совета ДМ 212.274.07 при Тюменском государственном университете по адресу: г. Тюмень, ул. Пирогова. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки Тюменского государственного университета

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2007 г

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

**Е.А.Чирятьев**

### **Общая характеристика работы.**

В ранних и сравнительно редких публикациях обычно рассматриваются изменения активности или содержания отдельных компонентов гемостаза при дефиците витаминов, при их введении с лечебной или экспериментальной целью. Однако почти не изучались в связи с эффектом витаминов те показатели, которые позволяют оценивать систему гемостаза интегрально.

Анализ литературы, касающейся связи витамина Е и гемостаза, свидетельствует, что в этом смысле и витамин Е не составляет исключения. Его роль в гемостазе как антиоксиданта стала предметом исследований лишь в последние десятилетия. Так, установлено, что обогащение организма витамином Е повышает атромбогенность эндотелия [Antoniades E. e.a., 2003], что антиоксидантная активность витамина Е усиливает эффекты других витаминов, в частности, витамина С, на отдельные про- и антикоагулянты [С.В.Миневцев, 2005, 2006].

В разные годы в эксперименте и в клинике получены разрозненные факты, свидетельствующие в одних случаях о способности витамина Е повышать активность отдельных факторов свертывания крови, в других – действовать противоположным образом [Vogelsang A. E. e. a., 1946; Scelton F., 1946; Zierler K.L. e.a. 1948; Baer S., Heine W.J., 1948; Ochsner A., 1950; Wilson W.L., Parry E.M., 1954; Mazzetti G.M., 1956; Venditti P e.a., 1998].

Изучение связи между уровнем витамина Е и содержанием некоторых прокоагулянтов в крови не выявило какой-либо существенной зависимости между ними [И.И.Котляров и др., 1961; Paul E.M. e.a., 1954]. Не находили изменений общей свертываемости крови и при введении лечебных доз больным с атеросклерозом [Ю.П.Никитин, 1962; Paul E.M. e.a., 1954], а также при алиментарной гиперхолестеролемии [А.Ш.Бышевский, 1978; А.Ш.Бышевский, В.Н.Кожевников, 1991]. Не отражается нагрузка витамином Е и на числе тромбоцитов [Schwarz K., Wust I., 1953]. Установлено, что витамин Е в дозах, значительно превышающих обычное суточное поступление его с пищевым рационом, у детей 4-18 месяцев жизни активизирует фибринолиз [Santangelo G., 1959]. Активацию фибринолиза обнаруживали и в экспериментах, наряду с удлинением временем свертывания цельной крови, времени рекальцификации и повышенной антитромбиновой активностью [Tomoda J., 1964]. Эти данные мало информативны и из-за противоречивости и разрозненности не могут быть систематизированы.

Невелик и объем данных, характеризующих влияние витамина Е на гемостаз в связи с состоянием перекисного окисления липидов, нет работ, в которых изучалась бы одновременно интенсивность непрерывного внутрисосудистого свертывания крови (НВСК) и толерантность к тромбину (Т к Тр). Даже выявив антиоксидантные свойства какого-либо витамина, его способность ограничивать активацию отдельных прокоагулянтов, или повышать эффективность некоторых физиологических антикоагулянтов, нельзя утверждать, что исследуемый витамин окажется способным предотвращать или ослаблять склонность к тромбофилии или к кровоточивости.

В то же время совсем недавно в небольшом числе исследований показано, что Т к Тр коррелирует со скоростью НВСК, повышение которой при активации ЛПО реализуется через рост коагуляционной активности тромбоцитов [М.К.

Умутбаева, 2003, 2005; Р.Г.Алборов, 2003; Р.Г.Алборов и др., 2005]. Это особенно ярко выявляется в экспериментальных ситуациях, которые сопровождаются оксидативным стрессом или, напротив, замедлением свободнорадикальных процессов на уровне ЛПО.

Собственно представление о НВСК, выдвинутое ранее [Д.М.Зубаиров, 1961, 1976; А.Ш.Бышевский и др., 1978, 1990; Zwaal R.F.A.e.a., 1977, 1982], и фундаментально обоснованное путем анализа мировой литературы [Д.М.Зубаиров, 2000], позволяет утверждать, что от изменения интенсивности взаимодействия тромбин-фибриноген (ВТФ) - процесса, скорость которого в кровотоке определяет интенсивность НВСК - в большой степени зависит наклонность к тромбозам или к гипокоагуляции [З.С.Баркаган, 1988, 1998; Д.М.Зубаиров, 2000; И.Н.Бокарев, 2000 а, б, 2002; Haszon I. e.a., 2003; Spronk H.M.e.a., 2003; Levi M. и др., 2004]. Это подтверждено изучением интенсивности НВСК в циркадных, сезонных ритмах и при экстремальных воздействиях различной природы [Б.И.Кузник, и др., 1976; В.П.Балуда и др., 1978; А.Ш.Бышевский, В.Н.Кожевников, 1986].

Упомянутые сведения обосновали необходимость проведения представляемой работы.

**Цель исследования** - изучить в эксперименте на животных влияние витамина Е на интенсивность липидпероксидации, антиоксидантный потенциал тромбоцитов, плазменное содержание маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген и толерантность к тромбину с тем, чтобы оценить целесообразность его использования как средства, способного изменять интенсивность непрерывного внутрисосудистого свертывания крови.

**Задачи, которые необходимо реализовать для достижения цели:**

1. Изучить в опытах на животных влияние витамина Е в дозах, эквивалентных лечебным и кратно их превосходящих, на содержание в тромбоцитах первичных и вторичных липидпероксидов и антиоксидантный потенциал.

2. Одновременно изучить плазменное содержание маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген.

3. Изучить изменения толерантности к тромбину при введении витамина Е в связи с изменениями липидпероксидации и антиоксидантного потенциала.

4. Сопоставить степень изменений липидпероксидации и антиоксидантного потенциала со степенью изменений плазменного уровня маркеров ВТФ и толерантности к тромбину при введении витамина Е в возрастающих дозах в физиологических условиях и на фоне гипероксидации, вызываемой введением прооксиданта.

5. Изучить эффекты витамина Е на липидпероксидацию, антиоксидантный потенциал и толерантность к тромбину при его введении одновременно с витамином С в дозе, проявляющей антиоксидантный эффект, или с антиоксидантом димефосфоном (также в дозе, обладающей антиоксидантным эффектом примерно той же степени). Предполагалось, что при выполнении этой задачи могут быть полученные дополнительные данные, которые позволят судить о том, связаны ли эффекты витамина Е на гемостаз с его антиоксидантными свойствами.

При ориентировочной оценке данных, полученных в опытах пунктов 1-4, возникла ещё одна задача:

## 6. Изучить влияние витамина Е на ф.ХПа-зависимый фибринолиз.

### **Научная новизна.**

1. Впервые установлено, что  $\alpha$ -токоферол у здоровых животных, содержащихся в физиологических условиях, ограничивает накопление липидпероксидов в тромбоцитах и повышает их антиоксидантный потенциал, показано, что это сопровождается снижением плазменного содержания маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген (т.е. замедлением НВСК), а также увеличением толерантности к тромбину.
2. Обнаружено, что высокие дозы токоферола устраняют или ограничивают вызываемый прооксидантом рост содержания в тромбоцитах липидпероксидов, снижение их антиоксидантного потенциала, увеличение плазменного уровня маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген и снижение толерантности к тромбину.
3. Охарактеризована дозозависимость влияния  $\alpha$ -токоферола на липидпероксидацию, интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген и толерантность к тромбину: показано, что эта зависимость ограничена наличием предельной дозы токоферола, превышение которой уже не усиливает его влияния на липидпероксидацию в тромбоцитах и плазменный уровень маркеров ВТФ.
4. Получены доказательства того, что введение токоферола инициирует снижение скорости взаимодействия тромбин-фибриноген (ВТФ) антиоксидантные свойства витамина, и это подтверждено детальной характеристикой динамики изменений липидпероксидации и антиоксидантного потенциала, интенсивности ВТФ и толерантности к тромбину при введении токоферола в физиологических условиях, на фоне гипероксидации или в паре с другими антиоксидантами.
5. Установлено, что влияние токоферола в больших дозах на ф.ХПа-зависимый фибринолиз (в эйглобулиновой фракции плазмы) не связано с его антиоксидантными свойствами.
6. Показано, что эффекты комбинации витамина Е с витаминным или невитаминным антиоксидантом на липидпероксидацию, толерантность к тромбину и интенсивность ВТФ не полностью суммируются.

**Практическая значимость работы** состоит: 1) в том, что её результаты обращают внимание врача на возможность ограничивать обогащением организма витамином Е при склонности к тромбообразованию ускоренное непрерывное внутрисосудистое свертывание крови; 2) в том, что полученные нами данные (наряду с известными из литературы) указывают на необходимость контролировать уровень маркеров ВТФ при назначении больших доз витамина Е или при длительной терапии осложнений атеросклероза витамином Е.

### **На защиту вынесены следующие положения.**

1. В физиологических условиях  $\alpha$ -токоферол дозозависимо уменьшает интенсивность ЛПО, повышает АОП тромбоцитов, чему сопутствует снижение плазменного уровня маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген и, как следствие, увеличивает способность организма адекватно реагировать на гипертромбинемию.
2. На фоне гипероксидации, вызванной введением прооксиданта, способность токоферола ограничивать ускорение липидпероксидации и снижать антиоксидантный потенциал тромбоцитов выражена сильнее, как и способность ограни-

чивать прирост содержания маркеров ВТФ; усилена также способность токоферола ограничивать снижение толерантности к тромбину, вызываемое проксидантом.

3. Изменения скорости взаимодействия тромбин-фибриноген при введении токоферола реализуются за счет его антиоксидантных свойств.

4. Токоферол в больших дозах активирует ф.ХIIа-зависимый фибринолиз в отсутствие антиплазминов вне зависимости от его антиоксидантного эффекта, и это может служить причиной роста толерантности к тромбину при длительном введении витамина Е.

5. Витамин Е в комбинации с витамином С или невитаминным антиоксидантом димефосфоном повышает антиоксидантный эффект, снижает интенсивность ВТФ и повышает толерантность к тромбину, что проявляется в виде неполной суммации эффектов токоферола и второго антиоксиданта.

#### **Апробация и публикация.**

**Материалы работы доложены на:** 1. Региональной конференции «Теория и методология современного научного исследования Тюменского региона». – Тюмень, 2003; 2. На 3-й Всероссийской научной конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». - Москва, 2006; 3. На региональной научно-практической конференции. - Сургут, 2006; 4. На заседании Тюменского областного отделения Общества биохимиков (Тюмень, 2007) и регионального отделения Российской Академии Естествознания (Тюмень, 2007).

Результаты исследований опубликованы в материалах упомянутых конференций, в журнале «Современные наукоёмкие технологии».- Москва, 2007, в виде двух глав в монографии «Зависимость гемостаза от С-витаминной обеспеченности организма». Москва: Медицинская книга. - 2007. (С. 7-13 и 40-61), а также в журнале «**European J. of Natural History**» - 2007 (всего 10 публикаций).

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Работа выполнена на нелинейных белых крысах (616 особей, 175±16 г или 200±17 г), для которых разработаны оптимальные рационы питания, установлена суточная потребность в витаминах: изменения гемостаза при разнообразных воздействиях преимущественно изучали на этих животных; у них удобно брать пробы крови из яремной вены непосредственно в шприц со стабилизатором в количестве, достаточном для определения всех намеченных показателей (до 40 мл/кг массы тела), не нарушая при этом требований гемостазиологии [З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998]. Учитывая сезонные сдвиги и зависимость гемостаза от метеофакторов [А.Ш.Бышевский, В.Н.Кожевников, 1986], в каждую серию опытов включали контрольную группу.

Использован рацион института питания АМН СССР, витамины вводили ежедневно в суточной потребности [О.Я.Курцинь, 1952], внося их в суточную порцию рациона. При раздаче пищевой смеси учитывали данные о фактическом её потреблении - 100 г/кг массы тела [О.Я.Курцинь, 1952]. Преимущества рациона относительно стандартов Дональдсона [Hawk P.W., Ozer V.L., 1954] подтверждены многочисленными публикациями институтов питания АМН СССР (Москва) и УССР (Киев), кафедр биохимии Донецкого и Запорожского медицинских институтов, кафедр гигиены питания Киевского и Львовского меди-

цинских институтов (1958-1975 гг.).

Пробы крови брали в шприц из обнаженной яремной вены у наркотизированных диэтиловым эфиром крыс (стабилизатор - 3,8% раствор цитрата натрия, 1:9). Рану закрывали кетгутовым швом.

**В плазме крови определяли содержание ряда маркеров ВТФ, что позволяло судить о его интенсивности:** 1. Уровень продуктов деградации фибрина (ПДФ), которые являются маркерами ВТФ и компенсаторной активации фибринолиза, связанной с ускоренной фибриной [Т.А.Рудницкая, 2003; Wada e.a., 1996, 2003] - модифицированным методом [А.Ш.Бышевский и др., 1991]. 2. Уровень D-димеров (маркеров фибринообразования или компенсаторного фибринолиза [Е.Г.Соболева и др. 2003; de Moerloose e.a., 2003]) устанавливали путем латексной агглютинации с моноклональными к D-димерам антителами (набор «D-dimer test», Roche), выражая результат в мкг/мл эквивалентов фибриногена. 3. Уровень РКМФ, растущий при повышении коагуляционной активности крови [С.Т.Ветриле и др. 2003; Wada e.a., 2003], определяли с помощью фенантролинового теста [А.П.Момот и др., 1999]. 4. Уровень ф. P<sub>3</sub> в плазме - по разнице показателей АВР плазмы до, и после освобождения её от тромбоцитов - по Rabiner & Groder, 1980]. 5. Содержание ф. P<sub>4</sub> в плазме - по действию прогретой и обедненной тромбоцитами плазмы (источник термостабильного ф. P<sub>4</sub>) на тромбин-гепариновое время свертывания субстратной плазмы (источник фибриногена и антитромбина III) [В.П.Балуда и др., 1980]. Фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub> - косвенные маркеры ВТФ, уровень которых в плазме пропорционален тромбинемии. 6. Концентрацию в плазме фибриногена (её снижение при других признаках ускоренного ВТФ, свидетельствует об активации НВСК) [Wada e.a., 2003] определяли спектрофотометрически [А.Ш.Бышевский, В.Мохнатов, 1969]. 7. Скорость XIII-зависимого фибринолиза определяли по Г.Ф.Еремину и А.П.Архипову, 1982, согласно описанию [З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998].

**Липидпероксидацию и антиоксидантный потенциал** оценивали, определяя: 1. Содержание первичных и вторичных липидпероксидов (соответственно ДК и ТБК-продуктов); 2. Период индукции (ПИ); 3. Скорость окисления (СО) [В.Н.Ушкалова, 1987, 1997; С.Н.Ельдецова, 1990]. Интенсивность флуоресценции возбуждения устанавливали с помощью флуориметра «Биан 130». Для изменения скорости ЛПО и величины АОП вводили крысам ацетат свинца (прооксидант) или димефосфон (антиоксидант).

Ацетат свинца вводили с рационом (50 мг на 1 кг массы тела). Эта доза активирует ЛПО и снижает АОП уже через 1 сут, не нарушая порфиринового обмена даже после длительного введения [А.А.Мкртумян, 1994; М.К.Умутбаева, 2005]. Относительно небольшой эффект свинца обусловлен тем, что всасывается из кишечника лишь около 5% присутствующего в рационе ацетата свинца [Материалы ВОЗ: Свинец, 1980]. Димефосфон (1,1-диметил-3-оксибутирилфосфоновая кислота) - антиоксидант, влияющий на эффект физиологических антиоксидантов организма, не изменяя гемостаза [А.М.Мкртумян, 1994]. В дозе 1г/кг он повышает у животных АОП [С.Н.Ельдецова, 1990; М.К.Умутбаева, 2003]. Однократное введение этой дозы изменяет агрегацию тромбоцитов в малой степени, что позволяет выявлять эффект других антиоксидантов, в нашем - случае

витамина Е.

Тромбоциты выделяли и отмывали согласно описанию [А.Б.Самаль и др., 1989].

**Толерантность к тромбину** устанавливали согласно описанию к патенту [А.Ш.Бышевский и др., 2003]. Специфичность результатов при использовании этого способа обусловлена тем, что фибриноген - основной субстрат тромбина в процессах свертывания [Д.М.Зубаиров, 2000], и тем, что снижение уровня фибриногена, реагирующего на тромбин, при экзогенной гипертромбинемии, зависит от состояния всех систем, которые обеспечивают выживание организма при ускоренном тромбиногенезе [Б.А.Кудряшов, 1975; З.С.Баркаган, 1998; В.П.Балуда и др., 1995; Д.М.Зубаиров, 2000; А.Ш.Бышевский и др., 2004].

**Анализ результатов.** Все количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений, вычисляя среднюю арифметическую ( $M$ ), среднюю ошибку средней арифметической ( $m$ ) и среднеквадратическое отклонение ( $\sigma$ ). Для оценки достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента ( $t$ ) и величину вероятности ( $p$ ). Сопоставляя интенсивные показатели, использовали альтернативное варьирование с определением тех же величин. Различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ . Оценивая результаты совместного действия двух факторов, устанавливали, имеет ли место суммация, синергизм или антагонизм известным математическим приёмом [М.Диксон, Э.Уэбб, 1966]. Графический анализ проводили в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 97) с построением аппроксимационных графиков, корректность которых оценивали по величине коэффициентов аппроксимации ( $R^2$ ).

Схемы опытов приводятся при их описании.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 119 страницах, содержит 15 таблиц и 13 рисунков, включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, их результаты, обсуждение и заключение, выводы с практическими рекомендациями и список литературы ( 224 публикации - 143 отечественных и 81 зарубежная).

### **Результаты исследований**

**Дозазависимость влияния токоферола на ЛПО, АОП, плазменный уровень маркеров ВТФ и толерантность к тромбину.** Сформировали 5 групп крыс-самцов - контрольную и 4 подопытных. Контрольная группа добавок к рациону не получала, крысы подопытных групп получали с рационом токоферол в дозах - 1.5, 3.0, 6.0 или 12 мг/кг массы тела. Кровь в подопытных группах брали на 10-й, 20-й и 30-й дни, у контрольных крыс - на 15-й день от начала опыта.

В табл. 1 приведены результаты оценки ЛПО, АОП, ВТФ и толерантности к тромбину (Т к Тр.) в разные сроки. Здесь видно, что содержание ДК и ТБК-продуктов к 10-му дню опыта снизилось пропорционально увеличению дозы токоферола. На 20-й день степень снижения уровня липидпероксидов уже заметнее, хотя зависимость от дозы становится менее выразительной.

К концу наблюдений степень снижения уровня липидпероксидов выражена близкими величинами при всех использованных дозах токоферола (разница, имеющая место, невелика).

На 10-й день ПИ не отличается от контроля при наименьшей из испытанных

доз ( $p > 0.05$ ), а при бóльших дозах наблюдается одинаковое удлинение ПИ от дозы 3.0 до дозы 12.0 мг/кг. То же - на 20-й и 30-й дни опытов.

Таблица 1. ЛПО, АОП в тромбоцитах и плазменное содержание маркеров ВТФ у крыс, получавших токоферол в дозе, эквивалентной лечебной (1.5 мг/кг), и в дозах, превышающих лечебную в 2, 4 и 8 раз (1-я строка - 10, 2-я - 20, 3-я - 30 дней)

Показатели	Крысы токоферол не получали (контроль), n - 12	Животные (n – 6 на каждом этапе) получали токоферол (мг/кг массы тела) в дозах:			
		1.5	3.0	6.0	12.0
ДК, А/мг ЛП	0.051±0.003	0.044±0.002* 0.034±0.002* 0.025±0.002*	0.038±0.003*+ 0.029±0.001*+ 0.021±0.001*+	0.033±0.004*+ 0.022±0.002*+ 0.021±0.001*+	0.020±0.003*+ 0.023±0.002*+ 0.022±0.003*+
ТБК, ед/мг ЛП	0.76±0.05	0.70±0.04* 0.62±0.04* 0.56±0.04*	0.65±0.06*+ 0.56±0.05*+ 0.51±0.04*+	0.61±0.04*+ 0.53±0.05*+ 0.42±0.06*	0.55±0.05*+ 0.52±0.03*+ 0.42±0.04*+
ПИ, мин/мл	45.7±1.4	46.8±1.7 54.8±1.2* 55.7±1.4*	47.9±2.1+ 57.2±1.3*+ 59.9±1.9*	54.9±1.5+ 56.1.5±1.8*+ 60.±1.7*+	61.0±2.0*+ 59.9±1.6*+ 60.1±1.7*+
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	0.75±0.03	0.71±0.03 0.68±0.02*+ 0.63±0.03*+	0.63±0.03*+ 0.62±0.03*+ 0.57±0.03*+	0.57±0.03*+ 0.52±0.02*+ 0.53±0.03*+	0.51±0.04*+ 0.49±0.03*+ 0.51±0.04*+
Ф. P <sub>3</sub> , %	89.7±1.4	87.5±1.1 79.1±1.5* 72.2±1.1* <sup>n</sup>	86.4±1.5 76.0±1.1* <sup>n</sup> 67.0±1.1* <sup>n</sup>	81.9±1.7*+ 73.1±1.4*+ 67.2±1.7*+	65.9±1.3*+ 67.2.3±1.4*+ 65.9±1.7*+
Ф. P <sub>4</sub> , с	3.5±0.02	3.3±0.04 3.0±0.03* 2.6±0.02*	3.1±0.02* 2.8±0.01* <sup>n</sup> 2.2±0.02* <sup>n</sup>	2.3±0.02*+ 2.0±0.01*+ 1.9±0.01*+	2.2±0.02*+ 2.1±0.01*+ 1.9±0.02*+
ФГ, г/л	2.2±0.03	2.1±0.08 1.9±0.12 1.9±0.08	2.0±0.07 2.2±0.09 2.1±0.09	2.4±0.09*+ 2.1±0.07 2.2±0.08	2.4±0.07*+ 2.5±0.07*+ 2.3±0.08
ПДФ, мг%	15.5±1.1	14.8±1.1 12.0±1.0* 10.2±1.1* <sup>n</sup>	13.9±1.2 11.0±0.7* 8.9±0.8* <sup>n</sup>	12.2±1.2*+ 10.7±0.6*+ 8.7±0.8*+	10.2±1.1*+ 8.8±0.9*+ 8.6±0.4*+
РКМФ, мкг/мл	23.9±0.8	21.1±1.1* 19.0±0.7* 17.3±0.7* <sup>m</sup>	19.0±0.7*+ 16.7±0.8* <sup>n</sup> 15.2±0.6*+	18.3±1.1*+ 15.1±0.7*+ 14.8±0.6*+	14.6±0.8*+ 13.8±1.0*+ 13.4±0.5*+
D-Д, мкг/мл	0.18±0.011	0.14±0.010* 0.11±0.030* 0.09±0.008* <sup>n</sup>	0.12±0.005*+ 0.12±0.010* 0.10±0.011* <sup>n</sup>	0.10±0.010*+ 0.11±0.013* 0.09±0.011*	0.11±0.011*+ 0.10±0.006*+ 0.11±0.005*

Обозначения: ДК - диеновые конъюгаты, ЛП - липид, ТБК - продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, ПИ - период индукции, СО - скорость окисления, Ф. - фактор, ФГ - фибриноген, ПДФ - продукты деградации фибрина, РКМФ - растворимые комплексы мономерного фибрина, D-Д - D-димеры; знак \* - достоверное отличие от контроля, + - от величины, найденной в тот же срок при дозе 1.5 мг/кг

Скорость окисления (СО) на 10-й день при наименьшей из доз также существенно не изменилась ( $p > 0.05$ ). В диапазоне доз от 3.0 до 12.0 мг/кг степень снижения заметнее с увеличением дозы. На 20-й день СО снижена пропорционально при дозах токоферола, равных 1.5, 3.0 и 6.0 мг/кг; увеличение дозы до 12.0 мг/кг не усугубило сдвига. К 30-му дню СО снизилась при дозе 1.5 мг/кг, и ещё заметнее - при дозе 3.0 мг/кг, дальнейшее увеличение дозы не изменило СО.

Содержание в плазме фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub> уменьшилось при дозе в 1.5 мг/кг лишь к 20-му дню опыта и ещё заметнее - 30-му дню. При дозе 3.0 мг/кг снижение

уровня тромбоцитарных факторов выявилось уже на 10-й день опыта, и было значительно выше, чем при дозе 1.5 мг/кг. Ещё заметнее степень снижения стала на 20-й и 30-й дни.

Концентрация фибриногена в плазме крови изменилась лишь у крыс, получавших 6.0 или 12.0 мг/кг. Выявлено это было при дозе 6.0 мг/кг только на 10-й день, а при дозе 12.0 мг/кг – и на 10-й, и на 20-й дни опыта (степень прироста – 9.1 % на 10-й день при обеих дозах, и 13.6% - на 20-й день при дозе токоферола 12.0 мг/кг. Следовательно, рост фибриногенемии кратковременен (таким же он был и во всех последующих опытах). Содержание ПДФ при дозе 1.5 мг/кг достоверно упало лишь к 10-му дню, что усугубилось к 20-му, и стало заметнее – к 30-му дню. При дозе в 3.0 мг/кг степень и сроки появления изменений уровня ПДФ практически такие же, как и при дозе 6.0 мг/кг. Не намного заметнее снижение уровня ПДФ и при дозе 12.0 мг/кг.

Уровень РКМФ при введении токоферола в дозе 1.5 мг/кг снижен уже на 10-й день, снижение усугубилось к 20-му и особенно – к 30-му дню. Более заметен этот эффект при дозе в 3.0 мг/кг. Направленность изменений была такой же и при дозах токоферола, равных 6.0 и 12.0 мг/кг, но степень их значительно выше.

Уровень D-димеров упал к 10-му дню при введении всех испытываемых доз токоферола. Наименьший эффект выявился при дозе 1.5 мг/кг, и возрос, причем, в одинаковой мере, при увеличении дозы в 2, 4 и 8 раз, не превзойдя, однако, эффекта, обусловленного дозой в 3.0 мг/кг к 30-му дню наблюдений.

Таким образом, на фоне полноценного питания у животных, не подвергавшихся каким-либо дополнительным воздействиям, введение токоферола снижает интенсивность ЛПО, и повышает АОП в тромбоцитах. Сопровождается замедление ЛПО достоверным, но небольшим снижением содержания маркеров ВТФ в плазме. Отметим также, что сдвиги показателей ЛПО, АОП и ВТФ при увеличении дозы токоферола, выявляемые на 20-й день введения, при восьмикратном увеличении дозы достигаются уже к 10-му дню и практически не изменяются при увеличении срока наблюдений.

Так как при введении токоферола в возрастающих дозах (1.5, 3.0 и 6.0 мг/кг) наблюдается дозозависимый прирост эффекта, в следующей серии опытов мы изучили в те же сроки и по той же схеме) дозозависимость влияния токоферола на толерантность к тромбину (табл. 2).

Таблица 2. Толерантность к тромбину у крыс, получавших токоферол в дозе, эквивалентной лечебной, и в дозах, превышающих её в 2 и 4 раза (1-я строка - 10, 2-я - 20, 3-я - 30 дней)

Показатель	Крысы токоферол не получали (контроль); n - 12	Животные получали токоферол (мг/кг массы тела) в дозах:		
		1.5 (n - 7 на этапе)	3.0 (n - 7 на этапе)	6.0 (n - 7 на этапе)
Толерантность к тромбину, %	100±1.8	109±2.0	119±2.1*	125±2.1**
		115±2.1*	124±2.0**	128±2.2**
		119±2.2*	132±2.2**	131±2.4**

Обозначения: знак \* - достоверное отличие от контроля, + - от величины, найденной в тот же срок при дозе 1.5 мг/кг, “ - от значения, найденного на 10-й день

Здесь видно, что токоферол в дозе 1.5 мг/кг не изменил толерантности к тромбину к 10-му дню, а к 20-му дню - повысил толерантность на 15%, к 30-му -

на 19% (изменения достоверны относительно контрольной величины). Изменения на 30-й день не отличаются от найденных на 20-й день ( $p > 0.05$ ).

**Дозазависимость влияния токоферола, вводимого одновременно с прооксидантом (свинцом) на ЛПО и АОП в тромбоцитах, на плазменное содержание маркеров ВТФ и толерантность к тромбину.** Антиоксиданты заметнее влияют на гемостаз на фоне ускоренной ЛПО [С.Л.Галян, 1993; В.Г.Соловьев, 1997; П.Я.Шаповалов, 2001]. Поэтому, обнаружив сравнительно малую эффективность токоферола как антиоксиданта, мы провели опыты, отличающиеся от описанных выше тем, что наряду с токоферолом вводили уксуснокислый свинец. Пробы брали на 10-й, 20-й и 30-й дни введения токоферола (1.5, 3.0, 6.0 или 12.0 мг/кг). Одновременно с токоферолом ежедневно вводили с рационом уксуснокислый свинец (50 мг/кг массы тела). Сформировали две контрольные группы: контроль I (крысы дополнений к рациону не получали), и контроль II (крысы получали свинец). В тромбоцитах оценивали ЛПО и АОП, в плазме - содержание маркеров ВТФ.

Таблица 3. ЛПО и АОП в тромбоцитах, плазменное содержание маркеров ВТФ при введении токоферола одновременно с ацетатом свинца (на 10-й, 20-й и 30-й дни опыта)

Показатели	Контроль I (n - 9)	Контроль II (крысы получали ацетат свинца, 50 мг/кг)	Животные получали ацетат свинца (50 мг/кг) и токоферол (мг/кг массы тела) в дозах:			
			1.5 (n - 7 на этапе)	3.0 (n - 7 на этапе)	6.0 (n - 7 на этапе)	12.0 (n - 7 на этапе)
ДК, А/мг ЛП	0.050±0.002	0.066±0.003* 0.075±0.004* 0.082±0.003*	0.059±0.003*+ 0.055±0.003+ 0.054±0.002+	0.051±0.003+ 0.047±0.002+ 0.049±0.003+	0.044±0.011+ 0.045±0.010*+ 0.041±0.009*+	0.041±0.004*+ 0.043±0.003*+ 0.040±0.003*+
ТБК, ед/мг ЛП	0.72±0.011	0.80±0.011* 0.87±0.005*+ 0.91±0.003*+	0.79±0.05*+ 0.72±0.06+ 0.78±0.06+	0.76±0.012+ 0.70±0.020+ 0.72±0.012+	0.63±0.012*+ 0.65±0.007+ 0.62±0.012*+	0.59±0.012*+ 0.61±0.012*+ 0.58±0.012*+
ПИ, мин/мл	49.7±2.3	40.1±1.6* 34.2±1.4* 30.0±1.3*	43.4±1.1*+ 47.9±0.04+ 48.9±0.05+	48.9±2.1+ 52±0.011+ 50.3±0.02+	49.4±1.1+ 51.2±0.011+ 52.3±0.022+	50.6±2.1*+ 51.2±0.011+ 52.3±0.022+
СО <sub>2</sub> , мм <sup>3</sup> /мл/мин	0.71±0.04	0.90±0.06* 1.04±1.4* 1.12±1.3*	0.86±0.01*+ 0.84±1.4*+ 0.74±1.3*	0.74±0.01+ 0.70±1.4+ 0.74±1.3+	0.72±0.03*+ 0.70±1.4+ 0.66±1.3*+	0.65±0.05*+ 0.62±1.1*+ 0.60±1.3*+
Ф. P <sub>3</sub> , %	80.4±1.2	99.6±1.1* 106±1.5* 116±1.9*	91.4±1.3*+ 93.4±1.1*+ 90.4±1.4*+	85.6±1.2*+ 85.9±1.0*+ 81.4±1.3+	81.9±1.3+ 83.9±1.7+ 80.3±1.8+	80.1±1.2+ 82.2±1.3+ 83.0±1.1+
Ф. P <sub>4</sub> , с	3.1±0.01	4.8±0.03* 4.9±0.04* 5.1±0.04*	3.5±0.02*+ 3.7±0.03*+ 3.3±0.03+	3.3±0.01+ 3.0±0.009+ 3.1±0.01+	3.1±0.02+ 3.3±0.02+ 2.9±0.01+	3.3±0.03+ 3.2±0.02+ 2.9±0.04+
ФГ, г/л	2.2±0.02	1.8±0.05* 1.7±0.03* 1.5±0.02*	2.1±0.02+ 2.3±0.02+ 2.0±0.02+	2.2±0.05+ 2.2±0.03+ 2.3±0.02+	2.2±0.06+ 2.2±0.07+ 2.3±0.07+	2.2±0.08+ 2.3±0.04+ 2.0±0.06+
ПДФ, мг%	15.3±0.7	23.2±0.6* 24.9±0.6* 27.9±0.6*	18.4±1.1*+ 16.9±0.6*+ 16.8±0.4*+	17.2 ±1.1*+ 16.1±1.0+ 16.7±1.1+	15.9±1.1+ 16.0±1.2+ 15.7.0±1.3+	14.9±1.0+ 13.9±1.1+ 14.8±1.1+
РКМФ, мкг/мл	24.5±1.1	33.6±1.2* 35.8±1.0* 39.9±1.2*	27.6±1.2*+ 26.3±1.5+ 24.1±1.0+	24.9±1.3+ 25.7±1.2+ 24.9±1.0+	24.9±1.1+ 25.0±1.2+ 23.9±1.2+	23.9±1.0+ 24.3±1.0+ 25.2±1.0+
D-Д, мкг/мл	0.18±0.004	0.32±0.012* 0.34±0.010* 0.36±0.011*	0.26±0.012*+ 0.23±0.010*+ 0.21±0.014+	0.22±0.008*+ 0.21±0.013+ 0.19±0.011+	0.19±0.010+ 0.20±0.012+ 0.18±0.013+	0.19±0.012+ 0.18±0.013+ 0.20±0.014+

Обозначения: как к табл 1; знак \* - достоверное отличие от контроля I, + - от контроля II

Из данных табл. 3 видно, что свинец с ростом продолжительности введения

ускорял ЛПО и снижал АОП в тромбоцитах. У животных, которые одновременно со свинцом получали токоферол (1.5 мг/кг), к 10-му дню содержание ДК и ТБК-продуктов превышало их уровень в контроле I, и в контроле II. К 20-му дню содержание ДК и ТБК сравнялось со значениями в контроле I, но оставалось выше, чем в контроле II.

Длительность ПИ при этой дозе токоферола была к 10-му дню опыта меньше, чем в контроле I, но больше, чем в контроле II. На 20-й и 30-й дни длительность ПИ сравнялась со значением в контроле I, т.е. ПИ стал продолжительнее, чем в контроле II.

Скорость окисления (СО) при дозе 1.5 мг/кг к 10-му и 20-му дням ниже, чем в контроле II, но выше, чем в контроле I, а к 30-му дню значение СО сравнялось со значением в контроле I, став заметно ниже, чем в контроле II.

При увеличении дозы токоферола до 3.0 мг/кг уже на 10-й день опыта содержание ДК, ТБК и величина ПИ выровнялись со значениями в контроле I, и уменьшились относительно контроля II.

При дозе токоферола в 6.0 мг/кг к 10-му дню все показатели сравнялись с величинами в контроле I, а к 20-му уже отличались от них: уровень ДК, ТБК и СО оказались ниже, а ПИ удлинился относительно контроля I. Не изменилась направленность сдвигов у крыс подопытной группы, получавшей токоферол в дозе 12.0 мг/кг, однако степень сдвигов при этой дозе была значительнее. Содержание маркеров ВТФ при введении свинца нарастало с такой же динамикой, как и признаки ускорения ЛПО и снижения АОП. Концентрация фибриногена сниженная на 10-й и 20-й дни опыта, восстанавливалась к концу наблюдений.

Введение токоферола в дозе 1.5 мг/кг (одновременно со свинцом) ограничило все эти изменения уже к 10-му дню опыта, но не выровняло уровня маркеров ВТФ с исходным, хотя на 20-й и 30-й дни они (показатели) уже меньше отличались от исходных, чем на 10-й день (фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>), или вообще не отличались от них (ПДФ, РКМФ и D-димеры).

Таким образом, ускорению ЛПО и снижению АОП в тромбоцитах сопутствует ускорение ВТФ. Токоферол в наименьшей из испытанных доз эти изменения ограничил, как ограничил и сдвиги ЛПО и АОП, обеспечивая восстановление контрольных величин к концу наблюдений при продолжавшемся введении свинца. Токоферол в дозе 3.0 мг/кг уменьшил сдвиги уровня маркеров более заметно - уже на 10-й и 20-й дни уровень всех маркеров ВТФ был близок к исходному, а на 30-й день не отличался от него. При введении токоферола в дозах 6.0 и 12.0 мг/кг уже на 10-й день все величины не отличались от найденных в контроле I - т.е. изменений фиксировано не было.

В целом, явления, связанные с активацией ЛПО и снижением АОП, вызываемые ацетатом свинца, устраняются токоферолом дозозависимо.

Из данных табл. 4 видно, что толерантность к тромбину уменьшалась по мере увеличения длительности введения свинца.

Введение токоферола ограничивало спад толерантности к тромбину. Так при дозе, равной 1.5 мг/кг, к 10-му дню снижение толерантности составило 50.2%, на 20-й и 30-й дни - 52.9 и на 58.0% (несущественное усугубление эффекта). При увеличении дозы токоферола до 3.0 мг/кг степень снижения толерантности уменьшилась заметнее - 10-й день на 46.8, 20-й - 32.2%, на 30-й только на

20.2%. С увеличением дозы токоферола до 6.0 мг/кг ограничение сдвигов толерантности оказалось ещё существеннее.

При введении токоферола в дозе 12.0 мг/кг одновременно с введением свинца Т к Тр достоверно не изменялась. Таким образом, прооксидант, активируя ЛПО и снижая АОП, повышает плазменное содержание маркеров ВТФ, т.е. ускоряет НВСК.

Таблица 4. Толерантность к тромбину при введении токоферола одновременно с ацетатом свинца на 10-й, 20-й и 30-й дни опыта

Показатель	Контроль I, (n - 12)	Контроль II (крысы получали ацетат свинца, 50 мг/кг)	Животные получали ацетат свинца (50 мг/кг) и токоферол (мг/кг массы тела) в дозах:			
			1.5 (n - 7 на этапе)	3.0 (n - 7 на этапе)	6.0 (n - 7 на этапе)	12.0 (n - 7 на этапе)
Толерантность к тромбину, %	100±2.0	33.9±1.0* 29.8±1.2* 23.6±0.9*	49.8±1.2*+ 47.1±1.3*+ 42.0±1.1*+	63.2±1.5*+ 57.9±1.3*+ 79.8±1.1*+	77.6±1.0*+ 67.8±1.1*+ 88.4±1.1*+	96.3±3.5+ 95.2±4.1+ 98.3±3.4+

Обозначения: \* - достоверное отличие от контроля I, + - от контроля II

Введение токоферола одновременно с прооксидантом дозозависимо и в зависимости от длительности введения ограничивает ускорение ЛПО и угнетение АОП, а также сдвиги уровня маркеров ВТФ. Ограничивая скорость НВСК, повышающуюся по мере введения прооксиданта, токоферол ограничивает степень снижения Т к Тр, а при максимальной из испытанных доз предупреждает её снижение.

**Влияние проксиданта на ЛПО и АОП в тромбоцитах, плазменный уровень маркеров ВТФ и Т к Тр на фоне предварительного обогащения организма токоферолом.**

Предположив, что предварительное обогащение организма токоферолом также может изменять ответ на прооксидант, проверили это экспериментально, чтобы выяснить, зависит ли от предшествующего уровня обеспеченности организма витамином Е реакция, вызываемая прооксидантом.

Оказалось (табл. 5), что введение свинца на фоне рациона, содержащего витамин Е в дозе, эквивалентной лечебной (контроль II), заметно повысило скорость ЛПО и снизило АОП (вырос уровень ДК и ТБК, сократился ПИ и увеличилась СО). На фоне длившегося 10 дней обогащения рациона токоферолом (при всех испытанных дозах) изменений ЛПО и АОП после введения свинца не нашли (содержание ДК, ТБК, значение ПИ и СО были такими же, как и до введения свинца).

Выше показано, что одновременное со свинцом введение токоферола только при его высоких дозах обеспечивало к этому сроку (10-й день) такой же результат, как в контроле I. В данном эксперименте (табл. 5) на фоне предшествующего обогащения токоферолом эффект свинца не выявился - в группах, получавших токоферол, в том числе и в наименьшей дозе (1.5 мг/кг), уровень всех определяемых нами маркеров ВТФ не изменился после введения прооксиданта. Это дополнительно свидетельствует о зависимости ВТФ (следовательно, и НВСК) от состояния ЛПО в тромбоцитах.

Представленные здесь же (табл. 5) данные, которые характеризуют у подопытных животных состояние толерантности к тромбину, свидетельствуют о следующем. Значительное снижение толерантности к тромбину, наблюдающееся после введения свинца крысам, не получавшим дополнительно токоферол, воспроизвелось как и в эксперименте, результаты которого приведены выше

(табл. 4). Здесь же видно, что свинец на фоне предварительной нагрузки токоферолом вызвал хотя и небольшое, но достоверное снижение толерантности к тромбину только при наименьшей из доз (1.5 мг/кг).

Таблица 5. Состояние ЛПО, АОП в тромбоцитах и плазменное содержание маркеров ВТФ через 1 сут после введения свинца (50 мг/кг) на фоне предварительной нагрузки токоферолом, длившейся 10 дней (n - 7)

Показатели	Контроль I (интактные крысы), n - 12	Контроль II (крысам ввели ацетат свинца, 50 мг/кг на фоне рациона, не дополнявшегося токоферолом), n - 12	Крысам ввели ацетат свинца (50 мг/кг) на фоне предварительной нагрузки токоферолом в течение 10 дней в ежедневных дозах (мг/кг массы тела):			
			1.5 (n - 7)	3.0 (n - 7)	6.0 (n - 7)	12.0 (n - 7)
ДК, А/мг ЛП	0.048±0.001	0.070±0.003*	0.053±0.002*+	0.049±0.002+	0.047±0.012+	0.044±0.005+
ТБК, ед/мг ЛП	0.70±0.09	0.81±0.011*	0.74±0.05*+	0.73±0.013+	0.68±0.012*+	0.69±0.013+
ПИ, мин/мл	49.9±2.1	40.6±1.4*	48.8±1.1+	48.8±2.1+	49.7±1.1+	48.8±2.2*+
СО, ммЗ/мл/мин	0.73±0.03	0.93±0.07*	0.76±0.01*+	0.75±0.01+	0.71±0.03*+	0.69±0.04+
р. Р <sub>3</sub> , %	82.2±1.1	99.1±1.2*	82.9±1.3+	84.0±1.5+	81.7±1.4+	80.8±1.3+
р. Р <sub>4</sub> , с	3.0±0.009	4.9±0.02*	3.2±0.008+	3.2±0.03+	3.3±0.03+	3.1±0.02+
рГ, г/л	2.2±0.03	1.7±0.02*	2.0±0.04+	2.1±0.06+	2.3±0.07+	2.2±0.07+
ДФ, мг%	15.0±0.6	23.8±0.5*	15.8±0.7+	16.0±1.1+	16.0±1.3+	15.7±1.1+
РКМФ, мкг/мл	25.1±1.0	32.9±1.1*	24.8±1.1+	24.7±1.2+	24.3±1.2+	24.6±1.1+
Р-Д, мкг/мл	0.20±0.004	0.34±0.010*	0.22±0.009+	0.21±0.011+	0.17±0.014+	0.21±0.014+
Т к Тр, %	100±1.9	34.7±1.3*	91.7±1.4*+	96.1±1.5+	97.9±1.2+	109±3.5+

Обозначения: как к табл. 1; знак \* - достоверное отличие от контроля I, + - от контроля II

При введении токоферола в дозах 3.0 или 6.0 мг/кг наблюдалась лишь слабо выраженная тенденция к снижению Т к Тр, не подтверждаемая статистически (на 3.9 и 2.1% соответственно,  $p > 0.05$ ). В случае предварительного введения наибольшей дозы токоферола (12.0 мг/кг) появилась даже слабо выраженная тенденция к повышению (на 9.0%).

Обнаружение тенденции, предположительно указывающей на возможность путем обогащения организма животного токоферолом предупредить снижение Т к Тр при экстремальном воздействии (введении свинца), побудило нас провести эксперименты с бóльшей дозой токоферола. Одновременно повторили опыт и с дозой, равной 12.0 мг/кг, увеличив продолжительность введения токоферола. Схема опытов: контроль I и контроль II такие же, как в предыдущем эксперименте; подопытные крысы получали с рационом токоферол (12.0 или 24.0 мг/кг, 30 дней). На 20-й и 30-й дни вводили свинец и через 1 сут оценивали Т к Тр (в контрольных группах эту пробу выполняли один раз).

Из данных табл. 6 следует, что увеличение длительности введения токоферола до 20 дней (в дозе 12.0 мг/кг) сопровождается ростом Т к Тр в сравнении с тем, что наблюдали при введении токоферола в течение 10 дней (сравнить с табл. 5). Вместе с тем, увеличение длительности введения токоферола до 30 дней не повысило Т к Тр. Увеличение дозы в 2 раза (до 24.0 мг/кг) к 20-му дню повысило Т к Тр в такой же степени, как и введение его в дозе 12.0 мг/кг. Эта же доза токоферола (24.0 мг/кг) в течение 30 дней, напротив, снизила Т к Тр.

Таблица 6. Толерантность к тромбину через 1 сут после введения свинца (50 мг/кг) на фоне предварительной нагрузки токоферолом (2 дней - 1-я строка, 30 дней - 2-я строка)

Показатели	Контроль I (n - 12)	Контроль II ацетат свинца, (крысам ввели 50 мг/кг свинца на фоне рациона, не дополнявше- гося токоферолом, n - 12	Крысам ввели ацетат свинца (50 мг/кг) на фоне предварительной нагрузки токоферолом в течение 20-30 дней (мг/кг массы тела) в еже- дневных дозах:	
			12.0 (n - 7 на этапе)	24.0 (n - 7 на этапе)
Толерантность к тромбину, %	100±1.8	35.3±1.6*	117±2.4*+ 115±1.2*+	119±2.5*+ 90.3±1.8*+

Обозначения: \* - достоверное отличие от контроля I, + - от контроля II

Видимо, высокие дозы токоферола лишь в малой мере изменяют Т к Тр, модифицируемую прооксидантом, в том числе и при продолжительном введении. Эти данные подтверждает обратную зависимость между уровнем маркеров ВТФ (их содержание не изменялось при введении прооксиданта на фоне токоферола), но ставит вопрос о том, не связано ли повышение Т к Тр со способностью токоферола активировать фибринолиз.

**Влияние токоферола на ф.ХIIa-зависимый фибринолиз.** В этих опытах изучали влияние на фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазмы токоферола при всех ранее использованных дозах и нарастающей длительности введения. Выполнены две серии экспериментов: 1) изучили эффект на фибринолиз токоферола в возрастающих дозах, 2) затем изучили влияние токоферола на сдвиги фибринолиза, вызываемые введением ацетата свинца.

Схема 1-й первой группы экспериментов: контроль - крысы получали рацион без дополнительного введения токоферола; крысы подопытных групп получали возрастающие дозы токоферола (6.0, 12.0 или 24.0 мг/кг), которые, судя по вышеприведенным данным, умеренно угнетают ЛПО, ВТФ и блокируют эффект прооксиданта (свинца). Пробы брали на 20-й и 30-й дни (через 1 сут после введения свинца), определяя ф.ХIIa-зависимый фибринолиз и Т к Тр. В контроле определения также проводили на 20-й и 30-й дни (в отличие от предшествующих опытов) в связи высокой вариабельностью фибринолиза [Shanmukhappa K. e.a., 2006; Wahlberg P. e.a., 2007].

Из данных табл. 7 следует, что токоферол в дозе, превышающей суточную потребность в 4 раза (6.0 мг/кг), после 30 дней введения вызывает лишь тенденцию к ускорению фибринолиза (на 11.1% против контроля).

Принять во внимание эту тенденцию, можно, во-первых, потому, что индивидуальные колебания значений фибринолиза при использовании этого метода велики - у человека от 4 до 10 мин (M = 7.0), следовательно, отклонения от средней взвешенной величины составляет ±75% [З.С.Баркаган, П.А.Момот, 1998], во-вторых, потому, что при бóльшей дозе (12.0 мг/кг) уже на 20-й день ускорение фибринолиза на 17.2% оказалось достоверным. Прирост скорости фибринолиза к 30-му дню при этой дозе составил уже 29.2% (величины 17.2 и 29.2, p < 0/05).

С увеличением дозы токоферола до 24.0 мг/кг фибринолиз к 20 дню исследований ускорился на 33.8%, что статистически не больше, чем на 20-й день (p > 0.05).

Таблица 7. XIIa-зависимый фибринолиз и Т к Тр у крыс, получавших токоферол в дозе, эквивалентной лечебной, а также в дозах, превышающих её в 4, 8 и 16 раз (1-я строка - 20, 2-я - 30 дней)

Показатель	Крысы токоферол дополнительно не получали (контроль), n - 12 на этапе	Животные получали токоферол (мг/кг массы тела) в дозах:		
		6.0 (n - 7 на этапе)	12.0 (n - 7 на этапе)	24.0 (n - 7 на этапе)
Ф.XIIa-зависимый фибринолиз, мин	8.1±0.03	8.0±0.04	6.7±0.04*	6.1±0.02*
	8.9±0.04	7.2±0.06	6.3±0.02*	5.9±0.03*
Толерантность к тромбину, %	100±2.6 (n - 24)	111±2.3	119±2.1*	125±2.1*
		113±3.1	121±3.2*	128±2.2*

Обозначения: знак \* - достоверное отличие от контроля

Итак, достаточно длительное введение токоферола в больших дозах в небольшой степени активизирует ф.XIIa-зависимый фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазмы, и это может явиться причиной роста толерантности к тромбину (табл. 7), выявленной при длительном введении токоферола в дозах, заметно превышающих суточную потребность крыс.

В табл. 8 представлены данные о ф.XIIa-зависимом фибринолизе и Т к Тр при введении токоферола (24.0 мг/кг, в течение 20 и 30 дней) животным через 1 сут после введения свинца.

Таблица 8. Толерантность к тромбину через 1 сут после введения свинца (50 мг/кг) на фоне предварительной нагрузки токоферолом, длившейся 20 (1-я строка) или 30 (2-я строка) дней (n - 7)

Показатель	Контроль I (n - 12)	Контроль II (крысам ввели 50 мг/кг ацетата свинца на фоне рациона, не дополнявшегося токоферолом (n - 7 на этапе))	Крысам (n - 7 на этапе) ввели ацетат свинца (50 мг/кг) после предварительной нагрузки токоферолом в течение 20-30 дней, ежедневная доза (мг/кг массы тела):		
			6.0	12.0	24.0
Ф.XIIa-зависимый фибринолиз, мин	8.2±0.02	6.9±0.05*	5.1±0.02*+	4.7±0.02*+	4.3±0.43*+
	7.9±0.03	6.6±0.02*	6.1±0.02*+	4.1±0.01*+	4.5±0.38*+
Толерантность к тромбину, %	100±1.2, n - 24	32.6±1.2*	119±1.3*+	121±2.4*+	133±3.1*+
			121±1.4*+	130±1.9*+	141±3.4*+

Обозначения: \* - достоверное отличие от контроля I, + - от контроля II

Судя по данным табл. 8, скорость фибринолиза после введения свинца на фоне рациона без добавок токоферола, повысилась (сократилось время лизиса) к 20-му дню – на 15.9, к 30-му – на 15.5 %. На фоне предварительного введения токоферола (6.0 и 12.0 мг/кг) ускорение фибринолиза ещё более заметное – на 37.1% и на 48.0% соответственно. Примерно в той же мере ускорился фибринолиз у крыс, которым ввели ацетат свинца на фоне предварительного введения токоферол в дозе 24.0 мг/кг ежедневно – на 20-й и 30-й дни скорость лизиса сгустка возросла на 47.1 и на 43.0% (статистически не различается с результатом при дозе токоферола в 12.0 мг/кг).

Следовательно, ускорение ЛПО (именно это происходит после введения свинца, как показано выше) сопровождается активацией ф.XIIa-зависимого фибринолиза. На фоне предварительной нагрузки токоферолом фибринолиз ускоряется ещё значительно.

Видимо, ускорение фибринолиза избытком токоферола не связано с его антиоксидантным эффектом – прооксидант ускоряет лизис фибрина, а на фоне

предварительной нагрузки токоферолом ускорение фибринолиза становится ещё заметнее.

**Влияние токоферола в комбинации с другими антиоксидантами на ЛПО, АОП, содержание маркеров ВТФ и толерантность к тромбину.** Чтобы уточнить, связаны ли эффекты токоферола на гемостаз с его антиоксидантными свойствами или преимущественно с ними, мы изучили сдвиги ЛПО, АОП, ВТФ и Т к Тр при введении токоферола одновременно с другими антиоксидантами:

- витамином С (препарат аскорбиновой кислоты - АК), которая заметно влияет на ЛПО и АОП, устраняет сдвиги в гемостазе в условиях гипероксидации [Э.В.Багумян и др., 2007].

- димефосфоном - синтетическим антиоксидантом, синергически влияющим на эффект физиологических антиоксидантов.

В дозе 11.0 мг/кг АК умеренно угнетает ЛПО, повышает АОП и снижает уровень маркеров ВТФ [Э.В.Багумян 2007], в том числе и у крыс, синтезирующих витамин С [П.Н.Шараев, 2004]. Димефосфон (1 г/кг) не устраняет полностью изменений, вызываемых С-авитаминозом: ограничивает эффекты на гемостаз, реализуемые за счет активации ЛПО, но не обладает С-витаминной и вообще витаминной активностью [А.Ш.Бышевский и др., 2004, 2005].

Используя эти антиоксиданты, мы хотели выяснить, как изменяется эффект витамина Е на ЛПО и гемостаз (суммируется, проявляет синергическое или антагонистическое действие) в присутствии других антиоксидантов. Опыты провели по схеме: 1) контроль – интактные крысы, 2) подопытные группы получали токоферол (1.5 мг/кг). Эффект этой дозы невелик, следовательно, позволяет выявить эффект других антиоксидантов. Крысам одной из подопытных групп вводили АК (11.0 мг/кг), другой - димефосфон (1.0 г/кг), третьей - вводили токоферол+АК, четвертой - токоферол+димефосфон в тех же дозах. Судя по публикациям, можно было ожидать, что в названных дозах АК и димефосфон оказывают примерно одинаковое влияние на ЛПО [И.А.Дементьева, 1998; Р.Г.Алборов, 2000; И.А.Аптекарь, 2002] и уровень маркеров ВТФ [Е.А.Винокурова, 1999]. Опыты длились 30 дней, пробы брали на 10-й, 20-й и 30-й дни.

Как видно из данных табл. 9, сдвиги, вызванные токоферолом (1.5 мг/кг), совпали с найденными нами ранее (табл. 1), подтверждая, что доза, эквивалентная лечебной дозе витамин Е, угнетает ЛПО, повышает АОП и снижает уровень маркеров ВТФ. В такой же степени замедлилось ЛПО и повысился АОП, снизился уровень маркеров ВТФ при введении АК или димефосфона в испытывавшихся дозах. Это подтвердило корректность эксперимента с попарным введением антиоксидантов: использованы дозы, изменяющие интенсивность перекисного окисления липидов в равной мере.

Таблица 9. ЛПО и АОП в тромбоцитах, плазменное содержание маркеров ВТФ у крыс, получавших токоферол в дозе, эквивалентной лечебной, только АК или димефосфон, а также токоферол+АК и токоферол+димефосфон (1-я строка - 10, 2-я - 20, 3-я - 30 дней)

Показатели	Контроль (крысы добавок не получали, n – 11)	Крысы получали:				
		Токоферол, 1.5 мг/кг (n – 6)	АК, 11.0 мг/кг (n – 6)	Димефосфон, 1 г/кг (n – 6)	Токоферол+АК (n – 6)	Токоферол +димефосфон (n – 6)
ДК, А/мг ЛП	0.051±0.003	0.042±0.001*	0.039±0.008*	0.038±0.003*	0.033±0.004* <sup>#</sup>	0.032±0.003* <sup>#</sup>
		0.035±0.003*	0.033±0.004* <sup>#</sup>	0.029±0.001* <sup>#</sup>	0.022±0.002* <sup>#</sup>	0.023±0.002* <sup>#</sup>
		0.024±0.002*	0.027±0.004 <sup>#</sup>	0.024±0.001*	0.021±0.001* <sup>#</sup>	0.022±0.003* <sup>#</sup>

Продолжение табл.9

ТБК, ед/мг ЛП	0.76±0.05	0.71±0.03* 0.63±0.03* 0.53±0.05*	0.68±0.041* 0.59±0.025** 0.49±0.024**	0.55±0.06* 0.52±0.05** 0.49±0.04**	0.51±0.04*+ <sup>#</sup> 0.46±0.05*+ <sup>#</sup> 0.39±0.06* <sup>#</sup>	0.48±0.05*+ <sup>#</sup> 0.44±0.03*+ <sup>#</sup> 0.37±0.04*+ <sup>#</sup>
ПИ, мин/мл	40.1±1.1	46.7±1.6* 54.6±1.1* 55.9±1.2*	44.8±1.2* 51.9±2.1** 53.9±0.9**	46.9±2.1* 57.2±1.3** 52.4±1.9**	54.9±1.5* <sup>#</sup> 58.9.5±1.8*+ <sup>#</sup> 60.3±1.7*+ <sup>#</sup>	53.9±2.0*+ <sup>#</sup> 59.0±1.6*+ <sup>#</sup> 69.1±1.7*+ <sup>#</sup>
СО <sub>3</sub> , мм <sup>3</sup> /мл/мин	0.61±0.02	0.53±0.04 0.50±0.01*+ 0.45±0.02*+ <sup>#</sup>	0.54±0.04* 0.55±0.13* 0.53±0.17**	0.55±0.03* 0.53±0.03** 0.50±0.04**	0.45±0.03*+ <sup>#</sup> 0.42±0.02*+ <sup>#</sup> 0.41±0.03*+ <sup>#</sup>	0.46±0.04*+ <sup>#</sup> 0.42±0.03*+ <sup>#</sup> 0.41±0.04*+ <sup>#</sup>
Ф. Р <sub>3</sub> , %	89.3±1.2	86.9±1.2 78.8±1.4* 71.3±1.0*	84.0±1.1* 76.1±1.0*+ 68.3±1.2*+ <sup>#</sup>	83.7±1.7*+ <sup>#</sup> 74.7±1.5*+ <sup>#</sup> 67.7±1.7*+ <sup>#</sup>	81.0±1.1* <sup>#</sup> 71.0±1.3** <sup>#</sup> 63.1±1.1** <sup>#</sup>	81.3±1.0* <sup>#</sup> 70.7±1.2** <sup>#</sup> 62.7±1.2** <sup>#</sup>
Ф. Р <sub>4</sub> , с	3.5±0.02	3.2±0.02* 2.9±0.03* 2.5±0.03*	3.0±0.01*+ 2.5±0.08*+ 2.2±0.01** <sup>#</sup>	2.4±0.02*+ 2.2±0.01** <sup>#</sup> 2.1±0.01** <sup>#</sup>	2.5±0.008*+ <sup>#</sup> 2.1±0.08*+ <sup>#</sup> 1.7±0.01** <sup>#</sup>	2.3±0.007*+ <sup>#</sup> 2.0±0.09*+ <sup>#</sup> 1.6±0.02** <sup>#</sup>
ФГ, г/л	2.2±0.03	2.2±0.08 2.1±0.11 1.9±0.09	2.1±0.05 2.2±0.08 2.3±0.07	2.3±0.09 2.1±0.08 2.2±0.09	2.2±0.03 1.9±0.06 2.3±0.07	2.1±0.03 2.0±0.05 2.2±0.07
ПДФ, мг%	15.5±1.1	14.1±1.3* 12.1±1.0* 9.7±1.2*	13.4±1.1*+ 12.0±0.7* 8.9±0.5*+ <sup>#</sup>	12.2±1.1*+ 11.4±0.2*+ <sup>#</sup> 8.8±0.8*+ <sup>#</sup>	11.5±1.0*+ <sup>#</sup> 10.1±0.4*+ <sup>#</sup> 8.4±0.3*+ <sup>#</sup>	11.7±1.1*+ <sup>#</sup> 9.9±0.3*+ <sup>#</sup> 8.2±0.4*+ <sup>#</sup>
РКМФ, мкг/мл	23.9±0.8	20.8±1.0* 19.1±0.6** 16.9±0.8** <sup>#</sup>	19.0±0.6*+ 16.9±0.8*+ <sup>#</sup> 15.1±0.7*+ <sup>#</sup>	18.5±1.4*+ 15.7±0.8*+ <sup>#</sup> 14.9±0.7*+ <sup>#</sup>	18.0±0.3* <sup>#</sup> 14.7±0.5*+ <sup>#</sup> 13.3±0.5*+ <sup>#</sup>	17.8±0.4* <sup>#</sup> 14.9±0.6*+ <sup>#</sup> 12.9±0.6*+ <sup>#</sup>
Д-Д, мкг/мл	0.18±0.011	0.14±0.009* 0.12±0.014* 0.08±0.009*	0.12±0.005*+ 0.11±0.009* 0.09±0.012**	0.11±0.010*+ 0.10±0.013* 0.10±0.012*	0.10±0.003*+ <sup>#</sup> 0.08±0.007*+ <sup>#</sup> 0.07±0.010*+ <sup>#</sup>	0.09±0.002*+ <sup>#</sup> 0.08±0.005*+ <sup>#</sup> 0.08±0.011*+ <sup>#</sup>
Т к Тр., %	100±1.3	109±2.0 112±2.5 121±2.0*	111±2.8 109±2.2 123±2.0*	109±2.3 114±2.1 129±2.0**	122±1.9* 127±1.8* <sup>#</sup> 146±2.1*+ <sup>#</sup>	128±2.1*+ <sup>#</sup> 131±2.4*+ <sup>#</sup> 149±2.3*+ <sup>#</sup>

Обозначения: как к табл. 1 знак \* - достоверное отличие от контроля, + - от величины, найденной в тот же срок при введении только токоферола, " - от значения, найденного на 10-й день, # - от значения в колонках «вводили АК» или «вводили димефосфон»)

Выше мы показали (табл. 2), что введение токоферола в дозе 1.5 мг/кг повышает толерантность к тромбину только к 30-му дню нагрузки. Здесь это подтвердилось (табл. 9). То же нашли и при введении только АК: на 10-й и 20-й дни – тенденция к росту толерантности, а к 30-му дню статистически достоверное её увеличение. То же - у крыс, которым вводили только димефосфон.

При введении в рацион комбинации *токоферол+АК* или *токоферол+димефосфон* толерантность к тромбину повышалась уже к 10-му дню, заметнее - к 20-му и ещё заметнее - к 30-му дню. В конечном счете, витамин Е с витаминным или невитаминным антиоксидантом, обеспечивая более высокий противooksидлительный эффект, замедляет НВСК, контролируемое по содержанию в плазме маркеров ВТФ, и повышает толерантность к тромбину.

В целом комбинирование токоферола с другим антиоксидантом, обеспечивая более высокий антиоксидантный эффект, снижает интенсивность ВТФ и повышает толерантность к тромбину в большей мере, чем при отдельном введении этих антиоксидантов. Чтобы объективно оценить изменение характера эффектов при комбинировании токоферола с АК или с димефосфоном провели математическую обработку данных, которая позволяет дифференцировать в действии двух факторов (в нашем случае - двух ингибиторов ЛПО и гемостаза) синергизм, антагонизм

или суммацию. С этой целью использовали уравнение [М.Диксон, Э.Уэбб, 1966], результаты которого после подстановки полученных в эксперименте значений могут отличаться по знаку, соединяющему левую и правую части, приобретая следующий вид:

$$\begin{aligned} \text{I. } \alpha_{1,2} &= (\alpha_1 + \alpha_2) - (\alpha_1 \times \alpha_2) \\ \text{II. } \alpha_{1,2} &< (\alpha_1 + \alpha_2) - (\alpha_1 \times \alpha_2) \\ \text{III. } \alpha_{1,2} &> (\alpha_1 + \alpha_2) - (\alpha_1 \times \alpha_2), \end{aligned}$$

где:

- $\alpha_1$  - парциальный эффект токоферола (одного антиоксиданта - в нашем случае токоферола),
- $\alpha_2$  - парциальный эффект второго антиоксиданта (в нашем случае - аскорбиновой кислоты или димефосфона),
- $\alpha_{1,2}$  - парциальный эффект двух антиоксидантов, вводимых одновременно.

Значение величины  $\alpha$  устанавливается делением показателя степени изменения в опыте на тот же показатель в контроле и вычитанием частного из единицы. Результат, соответствующий уравнению I, - признак суммации, уравнению II - признак антагонизма и уравнению III - признак синергизма.

Выполнив расчеты, мы получили такие результаты:

- для значений ДК, ТБК, ПИ и СО выявилась суммация эффектов токоферола и АК, токоферола и димефосфона;
- для значений ф. Р<sub>3</sub> и ф. Р<sub>4</sub>, ПДФ, РКМФ и D-димеров - также суммация.

В обеих группах показателей арифметическая сумма, характеризующая сдвиги при введении токоферола и токоферола+АК или токоферола+димефосфон, ниже алгебраической.

Для показателя Т к Тр результаты принципиально такие же, однако, степень отличия арифметической суммы анализируемых величин от их алгебраической суммы выше, чем для всех других показателей. Следовательно, влияние токоферола и АК, а также токоферола и димефосфона на состояние ЛПО и на уровень маркеров ВТФ суммируется лишь отчасти - экспериментальный суммарный эффект ниже арифметической суммы эффектов двух антиоксидантов, испытанных порознь, примерно на 30-35%. Экспериментальный эффект двух пар антиоксидантов на Т к Тр ниже арифметической суммы результатов, полученных при их раздельном введении, примерно на 50-70%.

В обоих случаях слово «примерно» означает, что степень суммации при оценке эффектов ЛПО, АОП и маркеров ВТФ в случае введения токоферола+АК или токоферола+димефосфона при разных дозах и разной продолжительности введения антиоксидантов отличалась от арифметической суммы в пределах от 32 до 45%. При оценке влияния пар токоферол+АК и токоферол+димефосфон разница между экспериментальным эффектом и алгебраической суммой их эффектов при раздельном введении отличия достигали 48-70% ( $p < 0.05$  по результатам альтернативного варьирования).

Отметим, что сходные данные получены при изучении эффектов других прооксидантов или антиоксидантов (тирозина, половых стероидов, селмевита, компливита, комбинации витаминов А, Е, С и Р, комбинаций, включающих эти витамины), вводимых совместно или порознь на ЛПО, на коагулоактивность тром-

боцитов, показатели общей свертывающей активности крови и отдельные прокоагулянты плазмы [А.А.Вакулин, 1988; И.В.Ральченко, 1998; Р.Г.Алборов и др., 2000; Е.А.Матейкович, 2004; Murugesan P. e.a., 2005].

- - -

Анализ данных литературы о связи с гемостазом витамина Е, выявил, что его введение вызывает противоположно направленные изменения отдельных про- и антикоагулянтов. Обычно оценивали мало информативные показатели - время кровотечения, протромбиновое время, реже - фибринолиз. Не изучена дозозависимость эффекта витамина Е на гемостаз, хотя имеются косвенные свидетельства её существования [Wolf R. e.a., 1998; Zahn, 2003].

Системное исследование роли витамина Е в функционировании гемостаза (в экспериментах и в клинике), в том числе и в связи с ЛПО, не проводилось. Лишь недавно опубликованы единичные наблюдения за влиянием витамина Е на интегральные показатели состояния гемостаза - НВСК и Т к Тр [Г.А.Сулкарнаева и др., 2006; А.В.Багумян и др., 2007]. Известно, что Т к Тр коррелирует со скоростью НВСК [М.К. Умутбаева, 2003, 2005; Р.Г.Алборов и др., 2005], а сдвиги НВСК, как это показано [Э.А.Шабанов, 1999; И.Н.Бокарев, 2000, 2002; М.К.Умутбаева, 2005], определяют склонность к гипер- или гипокоагуляции, особенно в ситуациях, сопровождающихся гипероксидацией.

Результаты немногочисленных и противоречивых наблюдений за влиянием витамина Е на свертываемость крови и фибринолиз при атеросклеротических изменениях у человека и животных [Ю.П.Никитин, 1962; Paul E.M. e.a., 1954 б], и результаты эпидемиологических обследований, в которых оценивали зависимость гемостаза от обеспеченности витамином Е при атеросклерозе [Vijver L.P. e.a., 1997; Vibo R., 2007; Blinc A. e.a., 2007] не согласуются между собой.

То, что в эксперименте, и в клинике получены данные, свидетельствующие в одних случаях о способности витамина Е повышать уровень или активность отдельных факторов свертывания крови, в других - влиять противоположным образом, обосновали проведение исследований, цель которых экспериментально изучить влияние витамина Е в зависимости от дозы на интенсивность ЛПО, АОП, плазменное содержание маркеров ВТФ и Т к Тр.

Мы предполагали, что полученные в экспериментах данные позволяют судить о целесообразности применения токоферола для направленного воздействия на интенсивность НВСК, или, по крайней мере, обосновать необходимость продолжения экспериментальных и клинических исследований в этом направлении.

Экспериментальное изучение и анализ эффектов на ЛПО, АОП, ВТФ и Т к Тр токоферола (в зависимости от дозы, от одновременного или последующего введения прооксиданта на фоне предварительного повышения обеспеченности организма витамином Е, в комбинациях с другим витаминным и невитаминным антиоксидантов), позволило прийти к следующему.

Полученные нами данные позволяют считать, что антиоксидантные свойства витамина Е обуславливают его влияние на содержание в плазме крови маркеров ВТФ, следовательно, витамин Е является одним из факторов, определяющих интенсивность НВСК в условиях физиологической нормы. Об этом свидетельствует сходство изменений ЛПО и АОП с одной стороны, и интенсивности ВТФ

– с другой при введении токоферола. О том же свидетельствует возможность имитировать эффекты токоферола на гемостаз введением таких доз другого антиоксиданта витаминной природы (АК) или невитаминного антиоксиданта димефосфона, которые оказывают равное по силе влияние на ЛПО и АОП, ограничивая одновременно и изменения ВТФ. Об этом же свидетельствует и то, что прооксидант, активируя ЛПО и снижая АОП, повышает в плазме содержание маркеров ВТФ, одновременное введение токоферола ограничивает эти сдвиги, а в больших дозах предупреждает их появление, особенно в случае предварительного повышения обеспеченности организма витамином Е.

Влияние витамина Е на ЛПО и АОП дозозависимо до известного предела: при значительном превышении содержания токоферола в суточной порции рациона против дозы, эквивалентной лечебной, прирост антиоксидантного эффекта замедляется, и при дальнейшем увеличении его содержания в рационе не сопровождается более приростом антиоксидантного действия. Особенность антиоксидантного эффекта витамина Е выражается ещё и в том, что дозозависимость более четко проявляется в его влиянии на АОП и менее выражена относительно скорости ЛПО. Наличие дозозависимости подтверждается ещё и тем, что при длительном введении токоферола в дозах 3.0, 6.0 и 12.0 мг/кг максимальные сдвиги ЛПО и АОП наступают быстрее, чем при введении меньшей дозы. Это говорит о существовании предельной степени обогащения организма токоферолом, превышение которой не усиливает более эффекта витамина Е на ЛПО и АОП и на интенсивность НВСК. Более того, выявляются и признаки, указывающие на вероятность развития противоположного эффекта на гемостаз – снижение прироста Т к Тр при чрезмерно высокой дозе или при длительном введении достаточно больших доз токоферола.

Позитивное влияние токоферола на Т к Тр выражено в большей мере, чем его влияние на интенсивность НВСК – изменения ВТФ и Т к Тр не согласуются между собой (преобладают позитивные изменения Т к Тр, особенно в случаях, когда ЛПО усиливается введением прооксиданта на фоне предварительного введения токоферола или одновременного их введения). Так как Т к Тр зависит в высокой степени от состояния фибринолитических процессов [Б.А.Кудряшов, 1975; Т.М.Калишевская и др., 1992], мы выясняли, не связано ли это несоответствие с активацией фибринолиза, тем более, что ускорение фибринолиза под влиянием витамина Е описывали и ранее. Оказалось, что достаточно продолжительное введение больших доз токоферола в небольшой степени активирует ф.ХIIa-зависимый фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазме, и это можно было предположительно считать причиной роста толерантности к тромбину, выявляемой при длительном введении токоферола в дозах, заметно превышающих суточную потребность крыс. Так как ускорение фибринолиза при введении избытка витамина Е не коррелирует с его антиоксидантным эффектом (прооксидант ускорял лизис фибрина, а предварительное введение токоферола ускоряло фибринолиз ещё заметнее), можно предполагать, что причиной преобладания прироста Т к Тр при введении токоферола над ограничивающим влиянием токоферола на ВТФ, является способность витамина Е активировать XIIa-зависимый фибринолиз как компонент противосвертывающей защиты, т.е. защиты от избыточно образующегося тромбина (в используемой нами пробе – на экзоген-

ный тромбин).

Комбинирование витамина Е с витаминным и невитаминным антиоксидантом, обеспечивая более высокий противooksидлительный эффект, снижает интенсивность НВСК, контролируемого по содержанию в плазме маркеров ВТФ, и повышает Т к Тр. Характер прироста этих эффектов при комбинации токоферола с АК или с димефосфоном – неполная суммация.

В целом устранение изменений ЛПО и АОП, вызываемых введением проooksиданта (свинца) с одновременным введением токоферола, зависит от его дозы и длительности введения.

Снижение Т к Тр при введении проooksиданта достаточно выражено и пропорционально длительности его введения. При одновременном введении проooksиданта и токоферола эффект свинца ослабляется пропорционально дозе витамина Е. С увеличением длительности введения при всех исследованных дозах токоферола Т к Тр повышается пропорционально дозе и длительности введения.

Между изменениями Т к Тр и изменениями содержания маркеров ВТФ, а, следовательно, и интенсивностью ЛПО, существует обратная зависимость, выявляемая при введении токоферола на фоне физиологической нормы, и более выраженная на фоне ускоренной ЛПО введением проooksиданта. Можно также утверждать, что способность токоферола поддерживать Т к Тр, обнаруженную при введении витамина Е в условиях физиологической нормы (т.е. при интенсивности ЛПО, свойственной крысам, не подвергавшимся воздействиям), значительно ярче проявляется на фоне гипероксидации.

Механизмы, определяющие возможность снижения Т к Тр при значительном превышении дозы витамина Е, эквивалентной лечебной, нуждаются в специальном исследовании, особенно в связи с данными, хотя и единичными, о способности токоферола активировать гемостаз и усугублять течение атеросклеротических изменений.

## **ВЫВОДЫ**

1.  $\alpha$ -Токоферол *in vivo* в физиологических условиях снижает интенсивность накопления липидпероксидов в тромбоцитах и повышает их антиоксидантный потенциал, что сопровождается снижением плазменного содержания маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген и увеличением толерантности животных к тромбину.

2. Эффект проooksиданта (свинца), который ускоряет накопление в тромбоцитах крыс липидпероксидов, снижает их антиоксидантный потенциал, повышает содержание в плазме маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген и снижает толерантность к тромбину, ограничивается, а при высоких дозах токоферола устраняется при одновременном, и особенно предварительном введении  $\alpha$ -токоферола.

3. Дозазависимость влияния  $\alpha$ -токоферола на липидпероксидацию, на интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген и толерантность к тромбину имеет пределы – со значительным увеличением дозы прирост эффекта ослабляется, существует и предельная доза, превышение которой не сопровождается усилением влияния токоферола на липидпероксидацию в тромбоцитах и на плазменный уровень маркеров ВТФ.

4. Инициатором изменений скорости взаимодействия тромбин-фибрино-

ген (ВТФ) при введении токоферола являются его антиоксидантные свойства, на что указывает одинаковая динамика изменений липидпероксидации и антиоксидантного потенциала с одной стороны, интенсивности ВТФ и толерантности к тромбину – с другой при дополнительном введении токоферола в физиологических условиях и на фоне гипероксидации.

5. Рост толерантности к тромбину, сопровождающий торможение липидпероксидации и рост антиоксидантного потенциала, а также замедление ВТФ при введении токоферола, свидетельствует, что витамин Е снижает скорость тромбиногенеза и повышает способность организма реагировать на избыток тромбина,

6. Введение токоферола в больших дозах активирует ф.ХIIа-зависимый фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазме вне связи с его антиоксидантным эффектом, и (предположительно) может служить причиной роста толерантности к тромбину при длительном введении витамина Е в больших количествах.

7. Введение комбинаций витамина Е с витаминным или невитаминным антиоксидантом, повышает антиоксидантный эффект, снижает интенсивность ВТФ и повышает толерантность к тромбину в виде неполной суммации эффектов.

#### Практические рекомендации

1. В связи с данными литературы, среди которых есть сообщения о позитивном влиянии терапии витамином Е на состояние гемостаза при атеросклеротических процессах, в других – указания на отсутствие эффекта, или на нежелательные сдвиги, и с учетом установленной нами возможности обратного эффекта при значительном увеличении дозы, следует избегать использования больших доз токоферола или его длительного применения без контроля за уровнем маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген.

2. Целесообразно комбинировать витамин Е с умеренными дозами витамина С при использовании как антиоксиданта для коррекции гемостатических сдвигов, обусловленных оксидативным стрессом.

3. Следует продолжить изучение влияния витамина Е на гемостаз в клинике, сопровождая витаминотерапию определением плазменного содержания маркеров непрерывного внутрисосудистого свертывания крови.

#### Печатные работы по теме диссертации

1. Рудзевич А.Ю. Влияние половых стероидов (этинилэстрадиола и левоноргестрела) на взаимодействие тромбин-фибриноген в кровотоке / А.Ю.Рудзевич, Е.М.Шаповалова ... **А.В.Шидин** и др. // Сб. «Теория и методология современного научного исследования Тюменского региона. - Тюмень: ТОГИРРО. - 2003. - С.121-122

2. Сулкарнаева Г.А. Гемостатические сдвиги при разных тиреоидных состояниях в зависимости от интенсивности процессов перекисного окисления липидов / Г.А.Сулкарнаева, А.Ю.Рудзевич ... **А.В.Шидин** и др. // Сб. «Теория и методология современного научного исследования Тюменского региона. - Тюмень: ТОГИРРО. - 2003. - С. 119-120

3. Бышевский А.Ш. Соотношение между толерантностью к тромбину и плазменным содержанием маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген /А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян ... **А.В.Шидин** и др. // Материалы 3-й Всероссийской научной конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» . М.: Росздрав, РАМН, научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулев. -2006. - С.41-42
4. Сулкарнаева Г.А. Толерантность к тромбину при гипо-, гипертиреозе и тиреотоксикозе /Г.А.Сулкарнаева, Е.М.Шаповалова ... **В.А.Шидин** и др. // Сб материалов 2-й региональной научно-практической конференции. - Сургут: Комитет по природопользованию и экологии. - 2006. - С.147-151
5. **Шидин А.В.** Влияние цианкобаламина на внутрисосудистое свертывание крови и толерантность к тромбину /**А.В.Шидин**, Э.В.Багумян // Современные наукоёмкие технологии. - 2007. - 1. С. 29
6. Бышевский А.Ш. Биологическое значение витамина С /А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян. ...**А.В.Шидин** и др.// В кн. «Зависимость гемостаза от С-витаминной обеспеченности организма. М.: Медицинская книга. - 2007. -7-13
7. Багумян Э.В. Влияние аскорбиновой кислоты на липидпероксидацию /Э.В.Багумян, А.Ю.Рудзевич ... **А.В.Шидин** и др. // В кн. «Зависимость гемостаза от С-витаминной обеспеченности организма. М.: Медицинская книга. - 2007. - 40-61
8. Бышевский А.Ш. Связь между внутрисосудистым взаимодействием тромбин-фибриноген и толерантностью к тромбину /А.Ш.Бышевский, А.А.Вакулин .... **А.В.Шидин**, и др. // Вестник гематологии. - 2007. - т. III. - 2. - С.67-68
9. Бышевский А.Ш. Тканевой фактор, его место в свертывании крови (обзор литературы) /А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян ... **А.В.Шидин** и др. //Медицинская наука и образование Урала. - 2007. 4. - С.78-80
10. Byshevsky A.S. The connection between lipid peroxidation and thrombin-fibrinogen interaction / A.S.Byshevsky, A.Y.Rudzevich ... **A.V. Shidin** e.a. / **European J. of Natural History** // 2007. -2. - P.35-42

#### Используемые сокращения

<b>АВР</b>	Активированное время рекальцификации
<b>АЧТВ</b>	Активированное частичное тромбластиновое время
<b>ВТФ</b>	Взаимодействие тромбин-фибриноген
<b>ДВС</b>	Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови
<b>ДК</b>	Диеновые конъюгаты
<b>ЛПНП</b>	Липопротеиды низкой плотности
<b>ЛПО</b>	Липидпероксидация
<b>НВСК</b>	Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови
<b>ПДФ</b>	Продукты деградации фибрина (фибриногена)
<b>ПИ</b>	Период индукции
<b>РКМФ</b>	Растворимые комплексы мономерного фибрина
<b>СО</b>	Скорость окисления
<b>ТБК</b>	Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
<b>Т к Тр</b>	Толерантность к тромбину
<b>Ф.(фф.)</b>	Фактор, факторы
<b>ФАТ</b>	Фактор активирующий тромбоциты
<b>Д-Д</b>	Д-димеры

**Шидин Александр Владимирович**

**ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА Е НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
ТРОМБИН-ФИБРИНОГЕН, ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТРОМБИНУ И ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ**

(экспериментальное исследование)

03.00.04 - биохимия

Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Подписано в печать 31 августа 2007 г. Тираж 100 экз.

Отпечатано в издательском центре «Академия»

Лицензия ИД № 05351 от 10. 07. 2001 г

Тюмень, ул. Одесская, 50