

**ГОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия  
Федерального агентства по здравоохранению  
и социальному развитию»**

**На правах рукописи**

Пустынников Александр Викторович

**ВЛИЯНИЕ РЕТИНОЛА НА ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ, АНТИОКСИДАНТ-  
НЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ТРОМБОЦИТОВ, УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВЗАИМОДЕЙСТ-  
ВИЯ ТРОМБИН-ФИБРИНОГЕН В ПЛАЗМЕ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТРОМБИМУ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.00.04 – Биохимия

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель – доктор медицинских наук профессор П.Я.Шаповалов

Тюмень - 2007

**Работа выполнена в ГОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия Росздрава»**

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

**Официальные оппоненты:**

**доктор медицинских наук профессор Корчин Владимир Иванович**

**доктор медицинских наук профессор Кадочникова Галина Дементьевна**

**Ведущее учреждение: ГОУ ВПО «Омская медицинская академия Росздрава»**

**Защита состоится 26 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.

**Актуальность исследований.** Биологическая активность витамина А, проявляющаяся участием в процессах роста, оксидоредукции, обмене протеинов и липидов [Б.А.Лавров, 1951; А.А.Душейко, 1962; П.Н.Шараев, 2004], в иммунной защите, в светоощущении [А.О.Натансон, 1961; П.Н.Шараев, 2004; В.П.Мищенко и др., 2005; А.Ш.Бышевский и др., 2006; Campbell J.K. e.a., 2004; Verrax J.e.a. 2006], и, наконец, его антиоксидантные свойства [В.П.Мищенко, 1981; Нарро F.e.a., 1999], позволяют ожидать, что и гемостаз – система эволюционирующая параллельно с системой кровообращения и существовавшая в примитивной форме и до неё [Б.А.Кудряшов, 1975] - может зависеть от обеспеченности организма витамином А (ретинолом). Вместе с тем, связь гемостаз-ретинол изучена недостаточно, хотя и предполагалась ещё в 50-е гг. прошлого столетия на основе наблюдений с применением тестов, отражающих уровень отдельных прокоагулянтов, но не позволяющих охарактеризовать состояние гемостаза в целом [П.И.Бурула, 1960; Pool, 1955; Loscialpo, 1959]. Связь выявляли и в единичных опытах с дефицитом ретинола или его нагрузкой [А.Ш.Бышевский, Н.Б.Луцук, 1962; MacGraw, 1969], также в клинике [М.Я.Тоя-Колесникова, 1961; Commerel e.a., 1960]. Затем гемостазиологи применяли более информативные методы для оценки связи ретинол-гемостаз [А.Ш.Бышевский, 1962, 1963], используя как модель гиперкогуляции алиментарную гиперхолестеролемию [Г.Г.Базазьян, Н.П.Сытина, 1961, 1969; Ю.П. Никитин, 1962; Oppenheim, Bruger, 1952], но и это не дало убедительных результатов из-за несовпадения данных, полученных в разных лабораториях.

В итоге, эти плохо доступные анализу разрозненные данные не позволяют считать установленной связь между обеспеченностью организма ретинолом и гемостазом. Однако, то, что профилактические дозы ретинола при склонности к гиперкоагуляции сдерживают её развитие [Ю.П. Никитин, 1962; Г.Г.Базазьян и др., 1969; А.Ш.Бышевский, 1978], и сведения о свойстве витаминных комплексов, включающих ретинол, сохранять функциональную активность системы гемостаза, указывает на необходимость продолжить исследования такого рода [А.Ш.Бышевский и др., 2006]. На то же указывают единичные публикации последних лет [С.В.Миневцев, 2005, 2006], согласно которым ретинол у экспериментальных животных в дозах, эквивалентных лечебным, ограничивает скорость липидпероксидации (ЛПО), поддерживает антиоксидантный потенциал (АОП) и повышает способность организма реагировать на гипертромбинемиию.

Всё это свидетельствует о связи ретинол-гемостаз, тем более что ретинол обладает свойствами антиоксиданта [Е.Б.Меньщикова и др., 2006], а возмущения в системе гемостаза часто связаны с ускорением свободнорадикальных процессов [С.Л.Галян, 1993; С.Л.Галян и др., 2002; П.Я.Шаповалов и др., 2001, 2003, 2005; Trueba G.P. e.a., 2004; Riccioni G. e.a., 2007].

Сказанное определило направление нашей работы и позволило сформулировать задачи для её достижения.

**Цель исследования.** Экспериментально изучить влияние рациона, несодержащего витамина А и содержащего его в избытке, на липидпероксидацию, антиоксидантный потенциал, интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген и способность организма реагировать на гипертромбинемиию.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить интенсивность ЛПО и АОП тромбоцитов, плазменное содержание маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген (ВТФ) и реакцию на гипертромбинемиию (толерантность к тромбину) у животных, получающих рацион, несодержащий витамина А;

2. То же изучить у животных, получающих рацион, содержащий витамин А в количестве, кратно превосходящем суточную потребность;

3. Изучить состояние ЛПО и АОП, интенсивность ВТФ и толерантность к тромбину при введении прооксиданта (свинца) или антиоксиданта (димефосфона) с рационом, несодержащим витамина А и содержащим его в избытке;

4. То же изучить у животных, получающих атерогенный рацион без ретинола или содержащий его в дозах, заметно превышающих суточную потребность;

Анализ данных, полученных при выполнении задач 1-й и 2-й, вызвал необходимость изучить скорость лизиса фибринового сгустка, в связи с чем была поставлена ещё одна задача:

5. Изучить наряду с ЛПО, АОП, ВТФ и толерантностью к тромбину, активность фибринолиза у животных, получающих полноценный рацион, атерогенный рацион без витамина А и с его избытком.

### **Научная новизна.**

Впервые показано, что у крыс, получающих рацион без витамина А, ускоряется ЛПО, снижается АОП и ускоряется взаимодействие тромбин-фибриноген, отражающее интенсивность непрерывного внутрисосудистого свертывания крови.

Впервые показано, что при наличии в рационе двух-, четырёх- и шестикратного избытка витамина А в тромбоцитах дозависимо растёт антиоксидантный потенциал, замедляются ЛПО и ускоряется взаимодействие тромбин-фибриноген.

Обнаружено, что толерантность к тромбину (способность организма адекватно реагировать на гипертромбинемиию) снижается при отсутствии витамина А в рационе и дозависимо растёт при его избытке.

Впервые показано, что отсутствие витамина А в рационе усиливает эффект прооксиданта (свинца) на ЛПО, АОП и на НВСК, и что эти эффекты прооксиданта дозависимо ослабляются при избытке витамина А.

Установлено, что гиперхолестеролемиа, вызываемая на фоне рациона, несодержащего витамина А, сопровождается ускорением НВСК, более выраженным, чем на фоне рациона, включающего витамин А (особенно в дозах, превышающих суточную потребность). Показано и то, что витамин А в количествах, превышающих суточную потребность в 6 и 12 раз, ускоряет фибринолиз (в эйглобулиновой фракции плазмы, не содержащей антиплазминов) пропорционально длительности введения, и что активация фибринолиза, видимо, и является причиной увеличения уровня РКМФ и D-димеров, в то время как содержание других маркеров непрерывного внутрисосудистого свертывания продолжает снижаться.

### **Практическая ценность работы**

1. Полученные данные обосновывают необходимость углублять изучение гемостаза в зависимости от степени обеспеченности организма витамином А, особенно при состояниях с склонностью к гиперкоагуляции (сердечно-сосудистые

заболевания, возрастные метаболические сдвиги, заболевания с хроническим течением - т.е. состояния, сопровождающиеся эндогенным дефицитом витамина А).

2. Наши данные о приросте уровня ПДФ и D-димеров при длительной нагрузке ретинолом свидетельствуют о целесообразности сопоставления динамики сдвигов плазменного содержания всех доступных определению маркеров ВТФ в разнообразных экспериментальных ситуациях, ведущих к ускорению или угнетению липидпероксидации. Не исключено, что обнаруженный нами феномен - *прогрессирующее снижение уровня фф. P<sub>3</sub> P<sub>4</sub> и ПДФ, прирост уровня РКМФ и D-димеров, сменивший их первоначальное снижение при угнетении перекисного окисления липидов избытком витамина А*, - приобретет диагностическое значение.

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

1. При отсутствии витамина А в составе полноценного (по остальным критериям) рациона питания ускоряется ЛПО и НВСК, падает антиоксидантный потенциал и способность организма адекватно реагировать на гипертромбинемия.

2. Присутствие в полноценном рационе питания ретинола в дозах, превышающих суточную потребность в 2-4 раза, замедляет ЛПО и НВСК, повышает АОП и толерантность к тромбину, а шести- и двенадцатикратный избыток, кроме того, активизирует фибринолиз.

3. Отсутствие витамина А в составе атерогенного рациона усугубляет ускорение НВСК и снижение толерантности к тромбину, а его шести- и двенадцатикратный (против суточной потребности) избыток ограничивает эти изменения и активизирует фибринолиз.

4. То, что отсутствие витамина А усугубляет эффекты прооксиданта на ЛПО, на ВТФ и толерантность к тромбину, а большие дозы препятствуют эффектам прооксиданта, тогда как эффекты антиоксиданта невитаминной природы суммируются с эффектами витамина А, свидетельствуют, что влияние ретинола на гемостаз связано с антиоксидантными свойствами, а при высоких дозах ещё и со способностью ускорять лизис фибрина.

#### **Апробация и публикация.**

Результаты работы опубликованы: в журнале, рекомендованном ВАК для соискателей степени кандидата наук (3 статьи); в материалах Всероссийской (с международным участием) конференции «Тромбозы в клинике...» (С.-Петербург, 2007), как глава в монографии (М.: - «Медицинская книга») и на электронной конференции «Экологические проблемы внутренних болезней, перинатологии и педиатрии» (2007, три статьи).

Доложены на заседании Тюменского регионального отделения РАЕ (2006, 2007), на заседании Тюменского отделения Биохимического Общества (2006).

**Структура и объем диссертации.** Работа изложена на 114 страницах, содержит 16 таблиц, 7 рисунков, включает введение, обзор литературы, собственные исследования (методы и результаты), обсуждение, выводы, список литературы (244 публикации - 101 отечественная и 143 зарубежных).

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

Опыты проведены на нелинейных белых крысах-самцах (170±14 г, 1020 особей). Выбор животных обусловлен тем, что для крыс создан и апробирован сба-

лансированный рацион питания, известна суточная потребность в витаминах (в ретиноле, в частности); тем, что влияние на гемостаза алиментарных факторов изучали чаще на крысах, тем, что у крыс можно брать пробы крови из *v.jugularis* в шприц со стабилизатором в количестве, достаточном для определения намеченных к исследованию показателей (до 38-40 мл/кг массы тела), не нарушая требований гемостазиологии к взятию проб [В.П.Балуда и др., 1978; З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998]. Так как гемостаз подвержен сезонным сдвигам и действию метеофакторов [А.Ш.Бышевский, В.Н.Кожевников, 1986] во все серии включали контрольную группу. За 2-3 дня до опытов и при их выполнении крысы получали рацион, соответствующий рекомендациям института питания АМН СССР [О.Я.Курцинь, 1952]. С суточной порцией рациона ежедневно вводили суточную дозу витаминов: А - 200 МЕ, D - 40 МЕ, Е - 1.5 мг, В<sub>1</sub> - 200 мкг, В<sub>2</sub> - 250 мкг, В<sub>6</sub> - 200 мкг, пантотенат-Са<sup>2+</sup> - 1500 мкг, РР - 250 мкг, холин - 50 мг на кг массы тела по описанной технологии. В кормушки вносили порцию рациона из расчета 100 г/кг массы [О.Я.Курцинь, 1952]. Преимущества рациона установлены сравнением со стандартами Дональдсона для «идеальных» крыс [Hawk, 1923; Hawk, Ozer, 1954], его эффективность подтверждена публикациями из институтов питания АМН СССР (М.) и УССР (Киев), кафедр биохимии, кафедр гигиены питания Киевского, Львовского и других медицинских институтов (1958-1975 гг.). Кровь брали шприцом из обнаженной вены у крыс, наркотизированных диэтиловым эфиром, стабилизируя её 3,8% раствором цитрата натрия (1:9). Рану закрывали кожным швом (кетгут).

Отделяли плазму крови центрифугированием и определяли в ней уровень следующих маркеров ВТФ:

1. Продукты деградации фибрина (ПДФ) - маркеры ВТФ и активации фибринолиза, развивающейся в ответ на фибринацию [Т.А.Рудницкая, 2003; Wada e.a., 1996, 2003] - определяли известным методом [А.Ш.Бышевский и др., 1991].

2. D-димеры - маркеры фибринообразования или компенсаторного фибринолиза [Е.Г.Соболева и др. 2003; de Moerloose, Boehlen, 2003] - определяли путем латексной агглютинации с моноклональными к D-димерам антителами (набор «D-dimer test», Roche), результат выражали в мкг/мл эквивалентов фибриногена.

3.РКМФ - их концентрация увеличивается при росте коагуляционной активности крови [Wada e.a., 1996, 2003] - определяли с помощью количественного варианта фенантролинового теста [А.П.Момот и др., 1999].

4. Ф. Р<sub>3</sub> - по разнице показателей АВР плазмы до и после освобождения её от тромбоцитов – метод Rabiner & Groder в описании [В.П.Балуда и др. 1980].

5. Ф. Р<sub>4</sub> - по действию прогретой и обедненной тромбоцитами исследуемой плазмы (источник ф. Р<sub>4</sub>) на тромбин-гепариновое время свертывания усредненной нормальной плазмы (источник ФГ и антитромбина III) [В.П.Балуда и др., 1980].

Определявшиеся фф. Р<sub>3</sub> и Р<sub>4</sub> - косвенные маркеры ВТФ - их уровень в плазме пропорционален уровню в крови тромбина, ускоряющего реакцию высвобождения [Д.М.Зубаиров, 2000; А.С.Шитикова, 2000].

6. Концентрация ФГ плазмы, свертываемого тромбином (при наличии других признаков ускоренного ВТФ, свидетельствует об активации внутрисосудистого свертывания крови [Wada e.a., 2003]). Определение проводили спектрофотометрически [А.Ш.Бышевский, В.Мохнатов, 1969].

7. Для уточнения механизма действия ретинола на гемостаз оценивали Хагеман-

зависимый фибринолиз. Использован прием, основанный на определении скорости лизиса эуглобулинов, осажденных из бедной тромбоцитами плазмы, обработанной каолином [Г.Ф.Еремин, А.П.Архипов, 1982]. Ход определения - согласно описанию [З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998].

В части опытов использован стандартный рацион, включавший холестерол и 6-МГУ (2г/кг и 3 мг/кг в суточной порции соответственно) - тиреостатики способствуют изменению липидного обмена за счет снижения функциональной активности щитовидной железы. Этот рацион мы далее называем *атерогенным*.

ЛПО и АОП оценивали, определяя содержание первичных и вторичных липидпероксидов в тромбоцитах: диеновых конъюгат (ДК) и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-продукты), период индукции (ПИ), скорость индуцированного окисления (СО). Экстрагировали липиды смесью гептана и изопропилового спирта в равных объемных соотношениях (100-кратный избыток).

Содержание ДК оценивали по оптической плотности ( $\lambda = 232$  нм) гептановой фазы. Содержание ТБК-продуктов определяли в экстракте флуорометрически [В.Н.Ушкалова, 1993, 1997]. Интенсивность флуоресценции возбуждения устанавливали с помощью флуориметра «Биан 130».

Кинетические величины прямого инициированного окисления липидов молекулярным  $O_2$  в присутствии динитрилазобисизомазляной кислоты (инициатор свободнорадикального окисления) определяли в экстрактах, выражая ПИ временем, затрачиваемым на поглощение пробой  $25 \text{ мм}^3 O_2$ , а СО – углом наклона линейного участка кинетической кривой [С.Н.Ельдецова, 1990; В.Н.Ушкалова, 1993, 1997].

Интенсивность ЛПО и значения АОП изменяли, вводя животным ацетат свинца – прооксидант, или димефосфон (ДМ) - антиоксидант.

Ацетат свинца вводили с рационом (50 мг/ 1 кг массы тела). В этой дозе свинец активирует ЛПО и снижает АОП без признаков нарушения обмена порфиринов даже при длительном введении [А.А.Мкртумян, 1994; М.К.Умутбаева, 2003], что обусловлено всасыванием из кишечника лишь около 5% ацетата свинца, введенного с рационом [Материалы ВОЗ: Свинец, 1980]. Димефосфон - синтетический антиоксидант, поддерживающий эффект физиологических антиоксидантов организма, заметно не изменяющий гемостаза [С.Н.Ельдецова, 1990; А.М.Мкртумян, 1994] - вводили в дозе 1г/кг, которая повышает у крыс АОП и умеренно изменяет агрегацию тромбоцитов, позволяя находить эффект других антиоксидантов, в нашем случае - эффект ретинола [М.К.Умутбаева, 2003; Р.Г.Алборов, 2006].

Для определений ЛПО и АОП в тромбоцитах, их выделяли и отмывали по описанию [А.Б.Самаль и др., 1989].

Толерантность к тромбину устанавливали по описанию к патенту [А.Ш.Бышевский и др., 2003]. Раствор тромбина (1 мл/кг массы тела, активность по времени свертывания 0.2% раствора ФГ - 24 с) вводили в яремную вену фиксированной на станке крысы после её пробуждения от наркоза (диэтиловый эфир). Пробы крови брали через 30 мин (0.9 мл в шприц с 0.1 мл 3.8% раствора трехзамещенного цитрата натрия). В плазме определяли содержание коагулируемого тромбином ФГ [А.Ш.Бышевский, В. Мохнатов, 1969]. Расчет проводили по формуле

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

где **D** – остаточная концентрация ФГ, %; **C<sub>k</sub>** – концентрация ФГ в плазме крыс, которым тромбин не вводили и каким-либо воздействиям не подвергали (исходный уровень); **C<sub>0</sub>** – концентрация ФГ у крыс, которым ввели тромбин на фоне изучаемого воздействия или без него (остаточная концентрация).

Значение *остаточной концентрации* ФГ (Co) у крыс, которым тромбин ввели без предварительных воздействий, принимали за стопроцентную толерантность к тромбину, и устанавливали степень её изменения (в %) при изучаемом воздействии по формуле:  $X\% = (D_0/D_k) \times 100$ , где X - толерантность к тромбину, %,  $D_0$  – остаточная концентрация ФГ (в %) у группы, подвергавшейся изучаемому воздействию,  $D_k$  - остаточная концентрация ФГ (в %) у группы, не подвергавшейся изучаемому воздействию (контроль).

Результаты, полученные этим способом, специфичны: ФГ - основной субстрат тромбина в процессах свертывания [Д.М.Зубаиров, 2000; З.С.Баркаган, 1998], снижение уровня ФГ при гипертромбинемии зависит от состояния всех систем, обеспечивающих выживание организма при гипертромбинемии [Б.А.Кудряшов, 1975; А.Ш.Бышевский и др., 1987; В.П.Балуда и др., 1995; Д.М.Зубаиров, 2000].

Активность фибринолиза оценивали по скорости лизиса эуглобулинов, полученных из бедной тромбоцитами плазмы после обработки её каолином [Г.Ф.Еремин, А.П.Архипов, 1982] согласно описанию [З.С.Баркаган, А.П.Момот, 1998].

Содержание ХЛ в сыворотке крови определяли методом, основанным на реакции Либермана-Бурхарда [М.И.Прохорова, 1982].

**Анализ результатов.** 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, определяя те же величины. Различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ ). Оценивая результаты одновременного действия двух факторов, использовали способ дифференциации эффектов – «суммация», «потенцирование» или «антагонизм», предложенный Диксоном и Уэббом [1966].

Графический анализ, включая определения степени достоверности отличий (p) и коэффициентов аппроксимации трендов ( $R^2$ ) проводили в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 97).

Схемы выполнения отдельных опытов зависели от решаемой задачи - поэтому они приводятся перед описанием конкретных экспериментов.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Эффекты рациона, не содержащего витамина А, и дополнительного введения витамина А на ЛПО, АОП, содержание маркеров ВТФ в плазме и толерантность к тромбину.** Опыты этой серии выполнены по схеме: группа 1-я (контроль интактный) – животные получали полноценный рацион (ретинол в соответствии с суточной потребностью – 200 МЕ/кг); группа 2-я – тот же рацион без ретинола (А-авитаминозный рацион); группы 3-я, 4-я и 5-я получали рацион, содержащий ретинол (400, 800 или 1200 МЕ/кг, что выше суточной потребности в 2, 4 и 6 раз соответственно). Эти дозы эквивалентны профилактической, средней и высокой лечебной дозе. Кровь в группах 2-5-й брали через 2, 4 и 6 недель от начала опыта, у контрольных - на 3-й неделе (в середине опыта), В пробах определяли показатели ЛПО, АОП и маркеры ВТФ. Число животных в группе (n) указано здесь и далее в таблицах.

Из данных табл. 1 следует, что ЛПО усилилась при отсутствии ретинола в рационе (выросло содержание липидпероксидов – ДК и ТБК), а при избытке – замедлилось. АОП при отсутствии ретинола в рационе снизился через 6 недель

(укорочен ПИ и выросла СО), а при избыточном введении ретинола - АОП увеличивался пропорционально дозе и длительности введения.

Таблица 1. ЛПО и АОП в тромбоцитах у крыс, не получавших ретинол и получавших его в дозе, равной суточной потребности, и в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз (1-я строка - 2, 2-я - 4 и 3-я - 6 недель). Полужирным шрифтом здесь и далее выделен контроль

Показатели	Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг (контроль) n – 14	Животные (n – 7 на каждом этапе) получали ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
		0.0	400	800	1200
ДК, А/мг ЛП	<b>0.051±0.003</b>	0.057±0.004 0.063±0.002* 0.072±0.002*	0.047±0.004 0.044±0.001* 0.037±0.002*	0.042±0.004* 0.034±0.003* 0.030±0.002*	0.021±0.001* 0.016±0.002* 0.012±0.002*
ТБК, ед./мг ЛП	<b>0.76±0.05</b>	0.81±0.03 0.91±0.04* 0.99±0.05*	0.69±0.05* 0.64±0.04* 0.57±0.03*	0.65±0.03* 0.60±0.04* 0.51±0.02*	0.47±0.04* 0.37±0.02* 0.22±0.02*
ПИ, мин/мл	<b>45.7±1.4</b>	46.0±1.6 43.8±1.2 35.7±1.4*	46.9±2.1 57.0±1.2* 64.6±1.8*	50.8±1.1* 61.5±1.9* 69.1±1.8*	63.4±1.9* 69.8±1.9* 77.4±1.8*
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.75±0.03</b>	0.77±0.05 0.81±0.04 0.92±0.04*	0.69±0.04 0.65±0.03* 0.57±0.04*	0.63±0.03* 0.55±0.02* 0.50±0.02*	0.44±0.03* 0.32±0.03* 0.21±0.02*

Обозначения: ДК - диеновые конъюгаты, ЛП - липид, ТБК - продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, ПИ - период индукции, СО - скорость окисления; знак \* - достоверное отличие от контроля

Из данных табл. 2 видно, что у крыс, не получавших ретинола, к концу опыта повысился в небольшой мере уровень маркеров ВТФ (в сравнении с контролем).

Таблица 2. Содержание маркеров ВТФ в плазме крыс, не получавших ретинол и получавших его в дозе, равной суточной потребности, и в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз (1-я строка - 2, 2-я - 4 и 3-я - 6 недель).

Показатели	Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг (контроль), n – 14	Животные (n – 7 на каждом этапе) получали ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
		0.0	400	800	1200
Ф. P <sub>3</sub> , %	<b>89.0±1.3</b>	87.3±1.2 91.0±1.4 96.9±1.2*	85.7±1.6 82.1±1.1* 77.0±1.2*	82.1±1.6* 78.2±1.5* 69.9±1.5*	78.3±1.4* 64.2±1.3* 60.1±1.6*
Ф. P <sub>4</sub> , с	<b>3.4±0.02</b>	3.5±0.05 3.1±0.05 2.8±0.01*	3.2±0.03 3.0±0.02* 2.7±0.02*	2.7±0.02* 2.4±0.02* 2.0±0.01*	2.1±0.02* 1.9±0.02* 1.7±0.01*
ФГ, г/л	<b>2.3±0.04</b>	2.2±0.09 2.1±0.10 2.2±0.09	2.1±0.08 2.1±0.09 2.2±0.07	2.1±0.08 2.1±0.09 2.3±0.07	2.3±0.08 2.6±0.05* 2.6±0.08*
ПДФ, мг%	<b>15.1±1.0</b>	15.3±1.0 16.1±1.4 12.1±1.2*	14.3±1.4 14.0±0.6* 9.9±0.5*	12.3±1.1* 12.0±0.8* 8.8±0.9*	17.9±1.1* 19.1±0.9* 18.6±0.5*
РКМФ, мкг/мл	<b>24.1±0.7</b>	22.6±1.2 25.0±0.9 28.1±0.9*	19.8±0.7 17.9±0.9* 15.7±0.7*	17.4±1.0* 14.2±0.6* 13.1±0.5*	15.4±0.6* 12.7±1.1* 10.9±0.4*
D-Д, мкг/мл	<b>0.20±0.009</b>	0.18±0.013 0.18±0.018 0.22±0.007*	0.17±0.009 0.16±0.012* 0.14±0.010*	0.14±0.011* 0.11±0.010* 0.08±0.009*	0.29±0.010* 0.27±0.008* 0.30±0.004*

Обозначения: Ф.. - фактор, ФГ - фибриноген, ПДФ - продукты деградации фибрина, РКМФ - растворимые комплексы мономерного фибрина, D-Д - D-димеры; знак \* - достоверное отличие от контроля

При введении ретинола в дозе, превышающей суточную потребность в 2 раза (400 МЕ/кг), снижен уровень маркеров ВТФ к 6-й неделе, а тенденция к сниже-

нию наметилась через 4 недели. При дозе ретинола в 800 МЕ/кг, снижение уровня маркеров ВТФ выявилось уже через 4 недели, будучи значительно выше, чем при дозе 400 МЕ/кг. К 6-й неделе сдвиг заметно усилился.

У крыс, получавших ретинол в большей дозе (1200 МЕ/кг), уже через 2 недели выявлены примерно такие же сдвиги, как при меньшей в 2 раза дозе. Сдвиги нарастали к концу наблюдений. В отличие от других групп при этой дозе ретинола через 6 недель уровень ПДФ и D-димеров стал выше контроля.

Концентрация ФГ в плазме изменилась только у крыс, получавших 1200 МЕ/кг ретинола, а в других группах не изменялся.

Таким образом, отсутствие ретинола в рационе привело к слабо выраженной активации ЛПО и снижению АОП тромбоцитов, и сопровождалось ускорением НВСК (повышением плазменного уровня маркеров ВТФ). При введении ретинола в избытке скорость ЛПО снижается, а АОП увеличивается одновременно со снижением уровня маркеров ВТФ. Степень изменений растет с увеличением дозы ретинола и длительности введения.

В следующей серии опытов в те же сроки изучали влияние рациона без ретинола и избытка ретинола на толерантность животных к тромбину, сохраняя ту же схему: 1-я группа (контроль интактный) – полноценный рацион (доза витамина А - 200 МЕ/кг); 2-я группа (А-авитаминозный рацион); 3-я, 4-я и 5-я группы - рацион, содержащий витамин А в количестве 400, 800 или 1200 МЕ/кг.

В табл. 3 видно, что при отсутствии ретинола в рационе через 2 недели выявилась тенденция снижения толерантности к тромбину (на 9%,  $p > 0.05$ ). Через 4 недели снижение составило 15%, а через 6 недель - 21% (в обоих случаях  $p < 0.05$ ). Введение ретинола в дозе, превышающей потребность в 2 раза, вызвало тенденцию к росту толерантности к тромбину уже через 2 недели, усилившуюся через 4 недели. К концу 6-й недели рост толерантности к тромбину стал существенным - 26% к контролю.

Таблица 3. Толерантность к тромбину у крыс, не получавших ретинол и получавших его в дозе, равной суточной потребности, и в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз

(1-я строка - 2, 2-я - 4 и 3-я - 6 недель)

Показатели	Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг (контроль), n – 14	Животные (n – 8 на каждом этапе) получали ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
		0.0	400	800	1200
Толерантность к тромбину, %	<b>100±1.6</b>	91±1.6 84.1±1.4*	108±2.1 111±2.2 126±2.1*	117±1.7* 122±2.2* 132±2.3*	124±2.2* 136±2.1* 135±2.3*

Обозначения: знак \* - достоверное отличие от контроля

При введении ретинола в дозе, превышающей потребность в 4 раза, толерантность к тромбину увеличилась уже через 2 недели, и заметнее – через 4 и 6 недель - на 12, 22 и 32% соответственно (во всех случаях  $p < 0.05$ ). То же, но в большей степени, наблюдали у крыс, получавших ретинол в дозе, превышающей потребность в 6 раз - прирост толерантности составил 24, 36 и 35% к контролю через 2, 4 и 6 недель соответственно.

Следовательно, потребление рациона без ретинола сопровождается снижением толерантности к тромбину, достигающим достоверных, но небольших значений на 6-й неделе. Избыток ретинола повышает толерантность при не-

большой дозе через 6 недель, а при вдвое большей - через 4 недели. При дозе, превышающей потребность в 6 раз, рост толерантности выявляется через 2 недели и достигает через 4 недели максимума, не увеличиваясь в дальнейшем.

**ЛПО при введении ретинола с прооксидантом.** Чтобы уточнить, связаны ли сдвиги ВТФ с антиоксидантными свойствами витамина А, или эта связь обусловлена какими-либо иными свойствами, мы изучили эффекты ретинола на фоне ускоренной ЛПО. Предполагалось, что если связь ретинол-гемостаз реализуется не за счет антиоксидантных свойств витамина А, то на её характере не отразится изменение фона, на котором оцениваются ЛПО, АОП и ВТФ в условиях авитаминоза А и при избыточном введении ретинола. Отличие от выше-рассмотренных опытов состоит в том, что вместе с ретинолом крысы получали ежедневно ацетат свинца (50 мг/кг). Контроль А (крысы получали ретинол, 200 МЕ/кг, отбор проб проведен один раз через 3 недели), и контроль Б (крысы получали ретинол, 200 МЕ/кг, и ацетат свинца). В группе «Контроль Б» и в подопытных группах пробы брали через 2, 4 и 6 недель.

Сравнение контролей А и Б (табл. 4) показывает, что введение свинца на фоне ретинола в дозе, равной суточной потребности, активизирует ЛПО (рост уровня ДК и ТБК) и снижает АОП (укорочение ПИ и рост СО). Изменения усиливаются с увеличением длительности опыта. Введение свинца с рационом без ретинола ещё заметнее активировало ЛПО и снизило АОП. Введение ретинола в дозе 400 МЕ/кг ослабило сдвиги ЛПО и АОП (сдвиги сохраняли отличия от контроля А, но не достигли значений в контроле Б). При введении ретинола в дозе 800 МЕ/кг сдвиги, вызываемые свинцом, уменьшились, и в ещё большей степени уменьшились они у крыс, получавших ретинол в дозе 1200 МЕ/кг – у этой группы животных выявилось снижение скорости ЛПО и рост АОП.

Таблица 4. ЛПО и АОП в тромбоцитах у крыс, получавших с ацетатом свинца (50 мг/кг) ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получавших ретинола, и получавших его в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раза. 1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель.

Показатели	Контроль А Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали ацетат свинца, 50 мг/кг) и ретинол (200 МЕ/кг) n - 7 на этапе	Животные (n – 7 на этапе) получали ацетат свинца (50 мг/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
ДК, А/мг ЛП	<b>0.053±0.003</b>	<b>0.067±0.003*</b> <b>0.075±0.003*</b> <b>0.085±0.004*</b>	0.075±0.004*+ 0.084±0.003*+ 0.092±0.002*+	0.059±0.002*+ 0.061±0.003*+ 0.060±0.004*+	0.054±0.011+ 0.055±0.011+ 0.052±0.008+	0.042±0.005*+ 0.044±0.004*+ 0.045±0.005*+
ТБК, ед./мг ЛП	<b>0.74±0.010</b>	<b>0.82±0.012*</b> <b>0.87±0.009*</b> <b>0.93±0.003*</b>	0.94±0.05*+ 0.99±0.09*+ 1.14±0.04*+	0.79±0.011* 0.78±0.011*+ 0.78±0.011*+	0.73±0.013+ 0.75±0.009+ 0.72±0.011+	0.77±0.012+ 0.70±0.010*+ 0.69±0.012*+
ПИ, мин/мл	<b>50.2±2.1</b>	<b>40.5±1.3*</b> <b>37.2±1.5*</b> <b>31.0±1.2*</b>	35.4±1.2*+ 31.0±1.4*+ 27.9±0.03*+	48.0±1.8*+ 47.3.2±1.1*+ 46.4±1.1*+	49.9±1.2+ 50.9±0.014+ 52.0±0.022+	57.0±2.1*+ 55.2±0.011*+ 54.6±0.021+
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.61±0.04</b>	<b>0.90±0.07*</b> <b>0.99±0.11*</b> <b>1.22±1.4*</b>	0.96±0.03*+ 1.20±1.2*+ 1.37±1.5*+	0.69±0.03*+ 0.68±0.04*+ 0.71±0.03*+	0.62±0.04+ 0.60±1.0+ 0.65±1.2+	0.54±0.04*+ 0.52±0.8*+ 0.53±0.4*+

Обозначения: как к табл. 2; знак \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б

Данные о содержании у животных маркеров ВТФ представлены в табл. 5.

Таблица 5. Плазменное содержание маркеров ВТФ у крыс, получавших с ацетатом свинца (50 мг/кг) ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получавших ретинола, и получавших его в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз.

1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель.

Показатели	Контроль А Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали ацетат свинца, 50 мг/кг) и ретинол (200	Животные (n – 7 на каждом этапе) получали ацетат свинца (50 мг/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
Ф. P <sub>3</sub> , %	79.7±1.1	99.1±1.1* 104±1.6* 114±1.2*	109±1.4*+ 113±1.5*+ 128±1.7*+	89.9±1.2*+ 90.0±1.1*+ 89.4±1.4*+	82.4±1.5+ 83.8±1.3+ 83.2±1.6+	81.3±1.4+ 81.2±1.1+ 80.6±1.1+
Ф. P <sub>4</sub> , с	3.2±0.02	4.9±0.02* 5.0±0.05* 5.1±0.03*	3.7±0.01*+ 4.1±0.03*+ 4.3±0.04+	3.4±0.02*+ 3.5±0.01*+ 3.5±0.009*+	3.4±0.01+ 3.5±0.02+ 3.3±0.04	3.4±0.04+ 3.3±0.02+ 3.1±0.04+
ФГ, г/л	2.2±0.01	1.9±0.06* 1.6±0.04* 1.5±0.03*	1.8±0.03*+ 1.5±0.03*+ 1.4±0.02*+	1.9±0.03*+ 2.0±0.03+ 1.9±0.02*+	1.9±0.05+ 2.1±0.06+ 2.1±0.07+	2.1±0.04+ 2.2±0.02+ 1.9±0.07+
ПДФ, мг%	15.0±0.8	24.2±0.6* 25.3±0.7* 28.1±0.5*	28.3±1.2*+ 32.3±0.6*+ 35.9±0.5*+	19.4±1.2*+ 20.1±1.1*+ 17.9±1.1*+	20.1±1.0*+ 22.2±1.1*+ 19.1±1.2*+	22.3±0.9*+ 24.1±1.0*+ 24.8±1.2*+
РКМФ, мкг/мл	25.0±1.0	34.5±1.1* 36.9±1.0* 39.7±1.3*	37.9±1.3*+ 38.6±1.2*+ 42.2±1.4*+	27.9±1.4*+ 28.1±1.2*+ 29.3±1.1*+	26.5±1.0+ 27.1±1.1+ 27.4±1.0+	27.0±1.1+ 26.8±0.8+ 27.1±1.1+
D-Д, мкг/мл	0.19±0.003	0.33±0.011* 0.35±0.012* 0.37±0.010*	0.35±0.011*+ 0.39±0.012*+ 0.44±0.015+	0.24±0.009*+ 0.25±0.011*+ 0.27±0.012*+	0.23±0.009*+ 0.24±0.011*+ 0.25±0.013*+	0.26±0.010*+ 0.24±0.012*+ 0.27±0.013*+

Обозначения: как к табл. 2; знак \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б

В плазме крыс, получавших свинец с рационом, содержащим ретинол в соответствии с суточной потребностью - 200 МЕ/кг (контроль А), через 2 недели повышен уровень всех маркеров ВТФ (исключение - ФГ). Степень прироста несколько увеличивается в последующие сроки, а уровень ФГ снизился через 2 недели (снижение усугублялось в последующие сроки).

У крыс, получавших свинец с рационом без ретинола (4-й столбец) сдвиги имеют ту же направленность, выражены заметнее, и усилились через 4 и 6 недель. Уровень ФГ снижается, но убыль невелика.

При введении свинца вместе с ретинолом (400 МЕ/кг) уровень маркеров ВТФ занял среднее место между показателями контроля Б и группы, получавшей свинец с рационом без ретинола. Уровень ФГ стал ближе к значениям в контроле А. При введении свинца с ретинолом (800 МЕ/кг) уровень маркеров ВТФ (исключая ПДФ и D-димеры) такой же, как в контроле А. Содержание ПДФ и D-димеров не достигло контроля, оставаясь несколько выше ( $p < 0.05$ ).

Т. е. эффект прооксиданта сопровождался ускорением ВТФ, ретинол ограничивал его эффект отчасти дозависимо (эффекты доз в 800 и 1200 МЕ/кг примерно одинаковы, но ниже, чем эффекты меньших доз).

Снижая на фоне прооксиданта скорость ЛПО, и ограничивая угнетение АОП, ретинол в дозах, превышающих суточную потребность в 4 и 6 раз, сдерживает сдвиги не всех маркеров ВТФ – отчасти сохраняется повышенный уровень в плазме ПДФ и D-димеров, что может быть обусловлено свойством ретинола активировать фибринолиз. Это было проверено экспериментально (см. ниже).

В опытах по той же схеме изучили толерантность к тромбину. Из данных табл. 6 видно, что введение прооксиданта с полноценным рационом существ-

венно снижает толерантность к тромбину (на 60, 61 и 76% за 2, 4 и 6 недель соответственно). Введение прооксиданта с рационом без ретинола, усугубляет снижение толерантности - за 2, 4 и 6 недель на 73, 79 и 85%. При введении прооксиданта с ретинолом в дозе 200 МЕ/кг, степень снижения во все сроки менее заметна, чем у крыс, получавших ретинол в соответствие с суточной потребностью, оставаясь ниже контрольной (контроль А) - на 61, 59 и 71%.

Таблица 6. Толерантность к тромбину у крыс, получавших ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получавших ретинола, и получавших ретинол в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз одновременно с ацетатом свинца (50 мг/кг). 1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель.

Показатели	Контроль А Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали ацетат свинца, 50 мг/кг) и ретинол (200 МЕ/кг МЕ/кг)	Животные (n – 7 на каждом этапе) получали ацетат свинца (50 мг/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
ТкТР, %	100±1.8	34.0±1.0* 29.1±1.4* 24.1±1.1*	27.1±1.2*+ 21.2±1.1*+ 15.0±1.3*+	39.2±1.4*+ 41.3±1.1*+ 28.9±1.0*+	47.9±1.0*+ 57.8±1.1*+ 59.1±1.1*+	91.3±2.1+ 90.4±4.1+ 92.2±2.6+

Обозначения: \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б.

При введении прооксиданта одновременно с ретинолом в дозе 800 МЕ/кг, толерантность снижается на 52, 42 и 41% в те же сроки. При введении прооксиданта одновременно с ретинолом в дозе 1200 МЕ/кг, толерантность в те же сроки оказалась ниже контрольной на 9, 10 и 8% соответственно (изменения статистически недостоверны, но их однонаправленность свидетельствуют, что полного восстановления толерантности и в этом случае не произошло - сохраняется тенденция понижения).

**Влияние ретинола на гемостаз и ЛПО при введении с антиоксидантом.** В этой части работы изучали влияние ретинола, вводимого одновременно с антиоксидантом невитаминной природы – димефосфоном (ДМ), который, не изменяя заметно свертываемости крови [А.М.Мкртумян, 1994; В.Г.Соловьев, 1997], в дозе 1г/кг ограничивает ЛПО и повышает АОП [М.К.Умутбаева, 2003]. Схема опытов с ДМ та же, что и с прооксидантом: контроль А (крысы получали ретинол, 200 МЕ/кг), контроль Б (крысы получали ДМ, 1г/кг).

Из данных табл. 7 видно, что у крыс контроля Б введение ДМ с рационом, содержащим ретинол (200 МЕ/кг), снизило интенсивность ЛПО и увеличило АОП (снижен уровень ДК и ТБК, удлинен ПИ, снижена СО) через 2 недели, и это стало ещё заметнее через 4 и 6 недель. При введении ДМ с рационом без ретинола сдвиги всех показателей ЛПО и АОП произошли в том же направлении, но появились только через 6 недель и были менее выражены. Если ДМ вводили с ретинолом в дозе 400 МЕ/кг, степень угнетения ЛПО была значительнее и через 2 недели скорость ЛПО оказалась ниже, чем в контролях А и Б, что стало ещё заметнее через 4 и 6 недель. С той же динамикой у животных этой группы удлинялся ПИ и уменьшалась СО. Ещё более заметные сдвиги нашли и в группе, получавшей ДМ с наибольшей дозой ретинола (1200 МЕ/кг).

Следовательно, ДМ при отсутствии в рационе ретинола проявляет менее выраженную антиоксидантную активность, а при введении одновременно с ретинолом эффекты обоих антиоксидантов отчасти суммируются.

Таблица 7. ЛПО и АОП в тромбоцитах у крыс, получавших ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получающих ретинола, и получавших ретинол в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз одновременно с димефосфоном (1 г/кг).

1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель.

Показатели	Контроль А. Крысы получали ретинол, 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали ДМ, 1 г/кг) и ретинол (200 МЕ/кг) n - 7 на этапе	Животные (n – 7 на этапе) получали димефосфон (1 г/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
ДК, А/мг ЛП	<b>0.055±0.004</b>	<b>0.047±0.004*</b> <b>0.040±0.002*</b> <b>0.034±0.002*</b>	0.049±0.003 0.044±0.003 0.039±0.002*	0.046±0.002* 0.038±0.003* 0.037±0.004*	0.043±0.003*+ 0.036±0.001*+ 0.031±0.005*+	0.040±0.004*+ 0.036±0.005*+ 0.031±0.005*+
ТБК, ед./мг ЛП	<b>0.73±0.011</b>	<b>0.68±0.011*</b> <b>0.62±0.007*</b> <b>0.51±0.004*</b>	0.71±0.03 0.66±0.05 0.64±0.02*+	0.68±0.012* 0.60±0.011* 0.47±0.011*+	0.58±0.012*+ 0.60±0.011*+ 0.47±0.011*+	0.55±0.010*+ 0.52±0.011*+ 0.46±0.010*+
ПИ, мин/мл	<b>50.5±2.1</b>	<b>53.2±1.0</b> <b>57.9±1.4*</b> <b>64.2±1.3*</b>	51.1±1.1 53.9±1.5 60.0±0.03*+	54.0±1.8* 57.3.2±1.1* 61.0±1.0*+	55.9±1.8*+ 59.2±1.1*+ 63.0±1.0*+	57.9±2.0*+ 60.8±0.009*+ 64.3±0.020+
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.59±0.03</b>	<b>0.54±0.07*</b> <b>0.49±0.10*</b> <b>0.38±1.2*</b>	0.56±0.03 0.54±0.21 0.49±1.5*+	0.50±0.03*+ 0.44±0.02*+ 0.32±0.03*+	0.51±0.01*+ 0.44±0.02*+ 0.31±0.03*+	0.48±0.05*+ 0.41±0.8*+ 0.30±0.3*+

Обозначения: как к табл. 2, знак \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б

В табл. 8 - данные об уровне ВТФ у этих же крыс. Здесь видно, что введение ДМ с ретинолом в дозе, равной суточной потребности (200 МЕ/кг), снизило уровень маркеров ВТФ и не изменило уровня ФГ (сравнить с контролем А).

Таблица 8. Плазменное содержание маркеров ВТФ у крыс, получавших одновременно с димефосфоном (1 г/кг) ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получающих ретинола, и получавших ретинол в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз.

1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель

Показатели	Контроль А Крысы получали ретинол, 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали ДМ, 1 г/кг) и ретинол, 200 МЕ/кг n - 7 на этапе	Животные (n – 7 на этапе) получали димефосфон (1 г/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
Ф. P <sub>3</sub> , %	<b>80.1±1.2</b>	<b>79.1±1.0</b> <b>77.0±1.1*</b> <b>76.1±1.1*</b>	83.1±1.4 80.4±1.7 77.1±1.0*	81.2±1.2 78.0±1.1 74.3±1.2*+	76.4±1.5*+ 73.8±1.3*+ 71.7±1.4*+	71.0±1.3*+ 70.0±1.0*+ 69.6±1.1*+
Ф. P <sub>4</sub> , с	<b>3.3±0.01</b>	<b>3.1±0.02</b> <b>2.9±0.04*</b> <b>2.5±0.02*</b>	3.3±0.02 3.1±0.04 2.8±0.04*+	3.2±0.07 2.6±0.01*+ 2.3±0.007*+	2.8±0.02*+ 2.5±0.01*+ 2.1±0.04*+	2.4±0.03*+ 2.3±0.01*+ 2.0±0.01*+
ФГ, г/л	<b>2.2±0.02</b>	<b>2.4±0.03</b> <b>2.1±0.02</b> <b>2.4±0.03</b>	1.9±0.04 2.0±0.05 3.4±0.02	1.9±0.05 2.1±0.03 2.0±0.02	1.9±0.05 2.1±0.03 2.1±0.06	2.2±0.04 2.0±0.02 1.9±0.07
ПДФ, мг%	<b>15.2±0.6</b>	<b>14.2±0.7</b> <b>12.1±0.6*</b> <b>10.4±0.4*</b>	14.5±1.2 13.3±0.7 12.2±0.4*+	13.9±1.1 11.8±1.3 9.1±0.6*+	13.1±.9*+ 11.2±1.2*+ 10.0±0.9*+	13.5±0.8* 15.5±1.0+ 17.8±1.1*+
РКМФ, мкг/мл	<b>24.8±0.9</b>	<b>22.7±1.2</b> <b>19.9±1.1*</b> <b>17.9±1.0*</b>	23.6±1.3 21.1±1.2* 19.4±1.4*+	22.9±1.5 20.8±0.8 16.3±1.0*+	20.3±1.1*+ 19.3±1.0*+ 27.4±1.0+	20.0±1.1*+ 18.1±0.5*+ 15.1±1.2*+
Д-Д, мкг/мл	<b>0.20±0.002</b>	<b>0.18±0.009</b> <b>0.17±0.008*</b> <b>0.15±0.007*</b>	0.19±0.011 0.18±0.011 0.17±0.009*+	0.19±0.012 0.17±0.018 0.13±0.011*+	0.18±0.007*+ 0.16±0.012*+ 0.11±0.013*+	0.19±0.010 0.25±0.013*+ 0.28±0.011*+

Обозначения: как к табл. 2; знак \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б

У крыс, получавших ДМ с рационом без ретинола (контроль Б), уровень маркеров ВТФ также снизился, но в меньшей степени, чем в контроле Б.

У животных, получавших по 400 МЕ/кг ретинола уровень маркеров ВТФ занял среднее положение между его величинами в контролях А и Б - т.е. степень сдвига ниже, чем у крыс получавших ДМ с рационом без ретинола.

При введении ретинола в дозе 800 МЕ/кг, особенно 1200 МЕ/кг степень снижения уровня маркеров ВТФ заметнее - эффекты ДМ и ретинола отчасти суммированы. Исключение - ПДФ и D-димеры – их уровень в плазме в поздние сроки эксперимента выше, чем в контролях А и Б.

Таким образом, уровень маркеров ВТФ при введении ДМ с ретинолом в дозе, равной суточной потребности, снижается заметнее, чем без ретинола. С увеличением дозы ретинола эффект ДМ (замедление ВТФ) становится выше, а при наибольшей дозе влияние ретинола на большую часть маркеров ВТФ нарастает, но уровень ПДФ и D-димеров повышается.

Опыты с оценкой толерантности к тромбину при введении ДМ (табл. 9) проведены по такой же схеме. ДМ на фоне ретинола в дозе 200 МЕ/кг вызвал небольшой, но прогрессирующий с увеличением длительности опытов рост толерантности к тромбину, ДМ с рационом без ретинола также увеличил толерантность, но в меньшей мере (прирост толерантности – 11% против 18 % в контроле Б,  $p < 0.05$ ). Введение ДМ с ретинолом в дозе 400 МЕ/кг вызвало больший рост толерантности (относительно контроля Б), также через 4 недели.

Таблица 9. Толерантность к тромбину у крыс получавших ретинол в дозе, равной суточной потребности, у не получавших ретинола, и получавших ретинол в дозах, превышающих потребность в 2, 4 и 6 раз одновременно с димефосфоном (1 г/кг).

1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6 недель

Показатели	Контроль А Крысы получали ретинол в дозе 200 МЕ/кг n – 12	Контроль Б (крысы получали димефосфон, 1 г/кг) и ретинол (200 МЕ/кг) n - 7 на этапе	Животные (n – 7 на каждом этапе) получали димефосфон (1г/кг) и ретинол (МЕ/кг массы тела) в дозах:			
			0.0	400	800	1200
ТкТР, %	100±1.2	112±1.1* 118±1.2* 129±1.3*	105±1.1 111±1.0* 117±1.4*+	117±1.4* 122±1.1* 135±1.3*+	120±1.8* 127±1.4*+ 141±1.5*+	142±2.1*+ 151±3.0*+ 184±3.1*+

Обозначения: \* - достоверное отличие от контроля А, + - от контроля Б

Введение ДМ с ретинолом в дозе 1200 МЕ/кг вызвало рост толерантности к тромбину уже в конце 2-й недели, и в большей мере – через 4 недели. Особенно значителен подъем толерантности через 6 недель.

**Хагеман-зависимый фибринолиз при содержании крыс на рационе без витамина А, и при его избытке.** Выше показано, что избыток ретинола, превышающий суточную потребность в 6 раз, угнетает ЛПО и замедляет ВТФ (по уровню фф. P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> и РКМФ), ограничивает эффект свинца и потенцирует эффект ДМ при введении в течение 6 недель. Однако, снижение уровня ПДФ и D-димеров, наблюдавшееся через 2 и 4 недели, сменилось к 6-й неделе их повышением. Это позволило думать, том, что значительный избыток ретинола может вызывать ещё и ускорение фибринолиза. Поэтому мы провели опыты с введением ретинола в уже испытанной (1200 МЕ/кг) и удвоенной дозе (2400 МЕ/кг), увеличив длительность введения до 8 недель. Фибринолиз в контроле определяли до опытов, через 4, 6 и 10 недель от его начала в связи с тем, что этот показатель сильно варьирует [Б.А.Кудряшов, 1975; Hirschl M.M. e.a., 2007; Lee C.K., 2007]. Анализ данных, полученных в эти сроки в контроле, не выявил значительных

колебаний фибринолиза, что позволило усреднить результаты и представить в контроле среднее значение его скорости.

Из данных табл. 10 видно, что рацион без ретинола привел к небольшой активации ЛПО и снижению АОП, как это нашли мы ранее в шестинедельных опытах (табл. 1). Длительное 8-10 недельное пребывание животных на рационе без ретинола сопровождается дальнейшим ускорением ЛПО и снижением АОП. У животных, рацион которых включал 1200 МЕ/кг ретинола, за 6 недель скорость ЛПО снижалась, как и прежде, а АОП увеличивался (сравнить с табл. 1). Продолжалось угнетение ЛПО и позднее: через 8 недель скорость ЛПО снизилась заметнее (уровень ДК в тромбоцитах упал через 6 недель до 0.027 А/мг липидов, контроль - 0.031 А/мг липидов), а через 10 недель до 0.020 А/мг липидов. Примерно так же изменился и уровень ТБК-продуктов, ПИ удлинялся, а СО увеличивалась.

Таблица 10. ЛПО и АОП у крыс, получавших ретинол в дозе 200 Е/кг (суточная потребность), не получавших ретинола, и получавших его в дозах, превышающих потребность в 6 и 12 раз (1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6, 4-я - 8, 5-я - 10 недель).

Показатель	Контроль: крысы получали ретинол (200 МЕ/кг), n – 18	Животные (n- 6 на этапе) получали ретинол (МЕ/кг) в дозах:		
		0.0 (n - 7 на этапе)	1200 (n - 7 на этапе)	2400 (n - 7 на этапе)
ДК, А/мг ЛП	<b>0.055±0.004</b>	0.054±0.004 0.057±0.003* 0.062±0.002* 0.067±0.003* 0.069±0.004*	0.041±0.005* 0.037±0.003* 0.031±0.005* 0.027±0.003* 0.020±0.003*	0.038±0.002* 0.031±0.002* 0.026±0.002* 0.018±0.001* 0.014±0.005*+
ТБК, ед./мг ЛП	<b>0.73±0.011</b>	0.74±0.04 0.80±0.06* 0.85±0.07* 0.85±0.04* 0.88±0.08*	0.55±0.011* 0.53±0.010* 0.47±0.009* 0.43±0.012* 0.38±0.009*	0.51±0.010* 0.49±0.012* 0.42±0.013* 0.39±0.010*+ 0.33±0.012*
ПИ, мин/мл	<b>50.5±2.1</b>	51.0±1.3 47.9±1.6 44.8±1.1* 43.9±1.7* 42.7±1.1*	57.4±1.4* 62.7±0.006* 63.4±0.021 66.5±0.005* 67.1±0.023	61.9±1.7*+ 65.7±1.5* 70.0±1.1* 76.2±1.4* 82.1±1.2*
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.59±0.03</b>	0.58±0.04 0.63±0.25 0.66±0.41* 0.68±0.27* 0.69±0.51*	0.46±0.04* 0.42±0.7* 0.33±0.4* 0.32±0.6* 0.33±0.4*	0.42±0.02* 0.36±0.03* 0.28±0.04* 0.29±0.03* 0.23±0.01*

Знак \* - достоверные отличия от контроля

У животных, получавших 2400 МЕ/кг, изменения в том же направлении ещё значительнее.

Таким образом, значительное увеличение дозы ретинола и длительности его введения усугубляет угнетение ЛПО и рост АОП, а отсутствие ретинола в рационе животных активизирует ЛПО и снижает АОП.

В табл. 11 приведены величины, характеризующие сдвиги содержания маркеров ВТФ у этих животных: у получавших рацион без ретинола, росло содержание маркеров ВТФ не только до 6-й недели, но и позднее (на 8-й неделе уровень выше, чем на 6-й, а на 10-й выше, чем на 8-й).

Скорость фибринолиза за 6 недель не изменилась, а через 8 и 10 недель оказалась сниженной (удлинилось время лизиса). При введении ретинола в дозе 1200 МЕ/кг прирост уровня маркеров ВТФ ограничился уже к концу 2-й недели, а снижение уровня части маркеров ВТФ (фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>, РКМФ) прогрессировало

до конца опыта. Такая же динамика изменений уровня фф. P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> и РКМФ у крыс, получавших ретинол в дозе 2400 МЕ/кг в сутки.

Таблица 11 Плазменное содержание маркеров ВТФ и Хагеман-зависимый фибринолиз у крыс, получавших ретинол в суточной потребности, не получавших ретинола, и получавших его в дозах, превышающих потребность в 6 и 12 раз (1-я строка - 7, 2-я - 7, 3-я - 6, 4-я - 8, 5-я - 10 недель).

Показатель	Получали ретинол (200 МЕ/кг), n – 10 на этапе	Животные (n- 7 на этапе) получали ретинол (МЕ/кг)		
		0.0 (n - 5 на этапе)	1200 (n - 5 на этапе)	2400 (n - 5 на этапе)
Ф. P <sub>3</sub> , %	<b>80.1±1.2</b>	82.0±1.5 83.1±1.9 87.4±1.1* 89.8±1.9* 92.5±1.3*	71.3±1.2* 67.8±1.1* 64.7±1.2* 63.5±1.2* 63.0±1.2*	70.0±1.4* 62.2±1.1* 61.1±1.3* 52.9±1.2* 48.1±1.3*
Ф. P <sub>4</sub> , с	<b>3.3±0.01</b>	3.2±0.04 3.4±0.05 3.8±0.04* 3.9±0.04* 4.1±0.04*	2.5±0.04* 2.3±0.06* 2.1±0.01* 2.0±0.04* 1.9±0.02*	2.2±0.02* 2.0±0.02* 1.8±0.03* 1.4±0.03* 1.0±0.02*
ФГ, г/л	<b>2.2±0.02</b>	2.2±0.04 2.0±0.05 2.4±0.06 2.0±0.05 2.4±0.06	2.2±0.04 2.1±0.03 1.9±0.07 2.1±0.03 1.9±0.07	2.1±0.03 2.0±0.02 2.2±0.06 2.0±0.02 1.9±0.04
ПДФ, мг%	<b>15.2±0.6</b>	16.0±1.1 16.2±0.9 19.4±0.5* 18.9±1.1* 19.6±0.4*	12.9±0.9* 14.7±1.1 18.1±1.1* 19.2±1.2* 19.9±1.0*	13.7±0.7* 15.6±1.1 19.4±1.2* 21.0±1.6* 26.2±1.3*
РКМФ, мкг/мл	<b>24.8±0.9</b>	23.9±1.5 24.5±1.3 29.8±1.3* 30.5±1.1* 29.9±1.2*	20.1±1.3* 18.3±0.7* 15.6±1.1* 14.9±0.7* 13.8±1.2*	18.7±1.2* 17.9±0.5* 14.3±1.2* 11.6±0.7* 11.0±1.0*
D-Д, мкг/мл	<b>0.20±0.002</b>	0.21±0.011 0.20±0.009 0.23±0.004* 0.24±0.008* 0.25±0.003*	0.18±0.010* 0.24±0.010* 0.27±0.013* 0.29±0.012* 0.31±0.012*	0.19±0.010 0.26±0.014* 0.31±0.016* 0.35±0.016* 0.37±0.013*
Ф.Ха-зависимый фибринолиз, мин; n - 24	<b>8.0±0.04</b>	8.3±0.05 8.5±0.04 9.0±0.06 10.1±0.06* 10.4±0.05*	8.2±0.02 7.9±0.03* 7.3±0.05* 6.8±0.04* 6.2±0.06*	6.9±0.04* 6.3±0.05* 6.0±0.03* 5.6±0.02* 5.1±0.03*

Знак \* - достоверные отличия от контроля

Содержание ПДФ и D-димеров при введении ретинола в дозах 1200 и 2400 МЕ/кг ниже контроля через 2-4 недели, а затем (особенно при дозе 2400 МЕ/кг) прогрессивно растет, превысив контрольный уровень через 10 недель.

Отсутствие ретинола в рационе лишь через 8 и 10 недель проявляется замедлением лизиса фибрина, причем степень замедления в эти сроки одинакова – т.е. его торможение поздно развивается и не прогрессирует.

При избытке ретинола фибринолиз, напротив, ускоряется уже через 2 недели при дозе 1200 МЕ/кг, и заметнее - при дозе 2400 МЕ/кг. С удлинением опыта скорость лизиса нарастает при обеих дозах, особенно при бóльшей из них.

Из данных табл. 12 видно, что толерантность к тромбину у крыс, не получавших с рационом ретинола, обнаруживала тенденцию к снижению уже в первые недели. Однако достоверный сдвиг был выявлен лишь через 8 недель - снижение толерантности на 16, а через 10 недель на 21 %.

Таблица 12. Толерантность к тромбину у крыс, получавших ретинол в суточной потребности, не получавших ретинола, и получавших его в дозах, превышающих потребность в 6 и 12 раз (1-я строка - 2, 2-я - 4, 3-я - 6, 4-я - 8, 5-я - 10 недель).

Показатель	Получали ретинол (200 МЕ/кг), n – 10 на этапе	Животные (n- 5 на этапе) получали ретинол (МЕ/кг) в дозах:		
		0.0 (n - 5 на этапе)	1200 (n - 5 на этапе)	2400 (n - 5 на этапе)
Толерантность к тромбину, %	100±2.6 (n – 24)	96±2.3	120±2.6*	126±2.4*
		94±3.1	127±2.9*	132±2.4*
		95±2.3	131±2.9*	142±2.0*
		84±3.6*	146±3.2*	154±2.7*
		79±2.5*	155±3.5*	166±2.9*

Знак \* - достоверное отличие от контроля

Избыток в рационе ретинола (1200 МЕ/кг) привел к росту толерантности: через 2 недели на 20, через 4 - на 27, через 6 недель на 131, через 8 и 10 недель - на 148 и 155 % соответственно. Значительнее эффект большей дозы ретинола (2400 МЕ/кг): за 2, 4, 6, 8 и 10 недель на 26, 32, 42, 54 и 66 % соответственно.

Итак, отсутствие ретинола в рационе сопровождалось умеренной активацией ЛПО, снижением АОП, ростом уровня маркеров ВТФ, слабо выраженным угнетением фибринолиза и снижением толерантности к тромбину. Избыток ретинола пропорционально дозе и длительности введения витамина угнетал ЛПО, повышал АОП, снижал уровень фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>. Уровень в плазме ПДФ и D-димеров, повышающийся при меньших дозах, при длительном введении в дозах, превышающих потребность в 6 и 12 раз, сопровождался снижением их уровня, сменившимся повышением, и выраженной активацией фибринолиза.

**Влияние витамина А, вводимшегося в составе атерогенного рациона, на ЛПО, АОП, уровень маркеров ВТФ, фибринолиз и толерантность к тромбину.** Судя по клиническим и экспериментальным данным, выраженность гиперхолестеролемии - величина, обратная уровню обеспеченности организма витамином А [Gatica L.V. e.a., 2006; Riccioni G. e.a., 2007]. Нагрузки ретинолом в дозах, эквивалентных лечебным, способствуют поддержанию активности противосвертывающих механизмов и ограничивают на фоне гиперхолестеролемии частоту гибели животных при гипертромбинемии [А.Ш.Бышевский, 1964; Г.Г.Базазян, 1969]. Поэтому важно было изучить динамику сдвигов ЛПО, АОП, маркеров ВТФ, фибринолиза и толерантности к тромбину при развитии гиперхолестеролемии на фоне рациона без ретинола и с его избытком.

Гиперхолестеролемию у крыс вызывали, вводя с рационом ХЛ и 6-МТУ - апробированный метод [А.Ш.Бышевский, 1964, 1978; Г.Г.Базазян, 1969]. Схема опыта: 1) контрольная группа получала полноценный рацион с ретинолом в соответствии с суточной потребностью (200 МЕ/кг); 2) три подопытные группы: одна получала атерогенный рацион без ретинола, вторая и третья получали с атерогенным рационом 1200 и 2400 МЕ/кг ежедневно в течение 10 недель. Пробы брали через 2, 4, 6, 8 и 10 недель.

Из данных табл. 13 видно, что у крыс, получавших ХЛ и 6-МТУ с рационом

без ретинола, увеличена холестеролемия уже на 2-й неделе, прогрессируя далее. У крыс, получавших ретинол в дозе 1200 МЕ/кг, прирост холестеролемии стал достоверным лишь через 8 недель и сохранялся до конца опыта. При дозе 2400 МЕ/кг увеличение холестеролемии выявилось лишь через 10 недель.

Таблица 13. Холестеролемия при алиментарной нагрузке холестеролом и 6-МТУ у крыс, не получавших ретинол (1-я строка), получавших ретинол в дозах 1200 и 2400 МЕ/кг в течение 70 дней.

Показатель	Контроль (ретинол по 200 МЕ/кг) (n – 10)	Крысы не получали ретинол (1-я строка), получали ретинол в дозе 1200 (2-я строка) или 2400 МЕ/кг (3-я строка); n - 6 на этапе Пробы взяты через (недель):				
		2	4	6	8	10
Холестерол, г/л	<b>0.075±0.003</b>	0.083±0.018	0.091±0.011*	0.102±0.003*	0.130±0.011*	0.157±0.013*
		0.081±0.019	0.087±0.009	0.089±0.012	0.117±0.013*+	0.147±0.012*+
		0.079±0.012	0.081±0.003+	0.082±0.005*+	0.087±0.003+»	0.120±0.003*+»

Знак \* - достоверное отличие от контроля, знак + - от значений в 1-й строке, знак “ - от значений во 2-й строке

Из данных, приведенных в табл. 14, видно, что скорость ЛПО при введении ХЛ и 6-МТУ с рационом без ретинола замедлилась через 6 недель и, заметнее, – через 8 и 10 недель. Тогда же увеличился АОП (удлинение ПИ и снижение СО).

Таблица 14. ЛПО и АОП у крыс, получавших холестерол и 6-МТУ с рационом, не содержащим ретинол и содержащим его в дозах 1200 и 2400 МЕ/кг

Показатели	Контроль (ретинол по 200 МЕ/кг) (n-12)	Крысы не получали ретинола (1-я строка), получали его в дозе 1200 МЕ/кг (2-я строка) или в дозе 2400 МЕ/кг (3-я строка). Пробы взяты через:				
		2 недели	4 недели	6 недель	8 недель	10 недель
ДК, А/мг ЛП	<b>0.052±0.003</b>	0.054±0.004	0.049±0.004	0.045±0.002*	0.040±0.003*	0.038±0.005*
		0.049±0.005	0.51±0.003	0.047±0.004*	0.043±0.002*	0.042±0.004*
		0.048±0.002	0.041±0.003*+»	0.035±0.002*+»	0.029±0.001*+»	0.027±0.005*+»
ТБК, ед/мг ЛП	<b>0.75±0.019</b>	0.74±0.05	0.71±0.06	0.68±0.03*	0.59±0.04*	0.56±0.07*
		0.71±0.012	0.73±0.010	0.66±0.007*	0.60±0.010*	0.57±0.007*
		0.69±0.013	0.63±0.010*+»	0.57±0.008*+»	0.53±0.010*+»	0.42±0.011*+»
ПИ, мин/мл	<b>50.6±2.1</b>	51.3±1.1	52.3±1.4	55.8±1.0*	56.4±1.5*	57.9±1.2*
		52.0±1.5	52.7±1.7	58.4±1.5*	59.8±2.6*	61.1±0.023*
		51.7±1.7	63.7±1.2*+»	65.0±1.2*+»	69.4±1.4*+»	70.6±1.3*+»
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.60±0.04</b>	0.58±0.04	0.60±0.24	0.55±0.11*	0.49±0.20*	0.46±0.22*
		0.46±0.04*	0.43±0.5	0.37±0.2*	0.32±0.4*	0.30±0.3*
		0.42±0.02*	0.37±0.02*+»	0.33±0.02*+»	0.28±0.02*+»	0.23±0.02*+»

Примечание: в опытах по 6 на каждом этапе. Знак \* - достоверное отличие от контроля, знак + - от значений в 1-й строке, знак “ - от значений во 2-й строке

Введение ХЛ и 6-МТУ с рационом, включавшим ретинол (2400 МЕ/кг), вызвало менее заметные, сдвиги.

Из данных табл. 15 видно, что у крыс, получавших ХЛ и 6-МТУ с рационом без ретинола, уровень маркеров ВТФ увеличен уже через 6 недель, и растет до конца опыта. При введении ХЛ и 6-МТУ одновременно с ретинолом в дозе 1200 МЕ/кг на 6-й, 8-й и 10-й неделе содержание в плазме тех же маркеров оказалось ниже, чем в отсутствие ретинола, и ниже, чем в контроле.

Однако уровень ПДФ через 4 недели оставался таким же, как и в группе крыс, получавших ХЛ и 6-МТУ без ретинола, а позднее повысился.

У крыс, получавших ХЛ и 6-МТУ с большей дозой ретинола (2400 МЕ/кг) все сдвиги маркеров ВТФ имели ту же направленность, как и при меньшей дозе (1200 МЕ/кг), однако, степень сдвигов была существеннее.

Скорость фибринолиза оказалась на 8-й и 10-й неделе сниженной при введении ХЛ и 6-МТУ без ретинола. При введении ретинола в дозе 1200 МЕ/кг фиб-

ринолиз ускорился через 4 недели, нарастая до конца наблюдений. У крыс, получавших ретинол в дозе 2400 МЕ/кг, ускорение фибринолиза выявилось уже через 2 недели и также прогрессировало до конца опыта.

Таблица 15 Плазменное содержание маркеров ВТФ и Хагеман-зависимый фибринолиз у крыс, получавших холестерол и 6-МТУ с рационом, не содержащим ретинол, и содержащим его в дозах 1200 МЕ/кг и 2400 МЕ/кг

Показатели	Контроль Ретинол по 200 МЕ/кг	Крысы не получали ретинола (1-я строка), получали его в дозе 1200 МЕ/кг (2-я строка) или в дозе 2400 МЕ/кг (3-я строка). Пробы взяты через:				
		2 недели	4 недели	6 недель	8 недель	10 недель
Ф. P <sub>3</sub> , %	<b>80.1±1.2</b>	82.0±1.5 71.3±1.2* 70.0±1.4*	83.1±1.9 67.8±1.1*+» 62.2±1.1*+»	87.4±1.1* 64.7±1.2*+» 61.1±1.3*+»	89.8±1.9* 63.5±1.2*+» 52.9±1.2*+»	92.5±1.3* 63.0±1.2*+» 48.1±1.3*+»
Ф. P <sub>4</sub> , с	<b>3.3±0.01</b>	3.2±0.04 2.5±0.04* 2.2±0.02*	3.4±0.05 2.3±0.06*+» 2.0±0.02*+»	3.8±0.04* 2.1±0.01*+» 1.8±0.03*+»	3.9±0.04* 2.0±0.04*+» 1.4±0.03*+»	4.1±0.04* 1.9±0.02*+» 1.0±0.02*+»
ФГ, г/л	<b>2.2±0.02</b>	2.2±0.04 2.2±0.04 2.1±0.03	2.0±0.05 2.1±0.03 2.0±0.02	2.4±0.06 1.9±0.07 2.2±0.06	2.0±0.05 2.1±0.03 2.0±0.02	2.4±0.06 1.9±0.07 1.9±0.04
ПДФ, мг%	<b>15.2±0.6</b>	16.0±1.1 12.9±0.9* 13.7±0.7*	16.2±0.9 14.7±1.1 16.6±1.1	19.4±0.5* 18.1±1.1* 19.4±1.2*	18.9±1.1* 19.2±1.2* 21.0±1.6*	19.6±0.4* 19.9±1.0* 26.2±1.3*+»
РКМФ, мкг/мл	<b>24.8±0.9</b>	23.9±1.5 20.1±1.3* 18.7±1.2*	24.5±1.3 18.3±0.7* 17.9±0.5*	24.5±1.3 15.6±1.1*+» 14.3±1.2*+»	30.5±1.1* 14.9±0.7*+» 11.6±0.7*+»	31.8±1.2* 13.8±1.2*+» 11.0±1.0*+»
D-Д, мкг/мл	<b>0.20±0.002</b>	0.21±0.011 0.18±0.010* 0.19±0.010	0.20±0.009 0.24±0.010* 0.26±0.014*	0.23±0.004* 0.27±0.013*+» 0.31±0.016*+»	0.24±0.008* 0.29±0.012*+» 0.35±0.016*+»	0.25±0.003** 0.31±0.012*+» 0.37±0.013*+»
Хагеман-зависимый фибринолиз, мин	<b>8.0±0.04</b>	8.3±0.05 8.2±0.02 6.9±0.04*	8.5±0.04 7.9±0.03 6.3±0.05*	9.0±0.06 7.3±0.05*+» 6.0±0.03*+»	10.1±0.06* 6.8±0.04*+» 5.6±0.02*+»	10.4±0.05* 6.2±0.06*+» 5.1±0.03*+»

Примечание: в контроле 12 особей; в опытах по 6 на каждом этапе. Знак \* - достоверное отличие от контроля, знак + - от значений в 1-й строке, знак « - от значений во 2-й строке

Толерантность к тромбину (табл. 16) при введении ХЛ и 6-МТУ с рационом без ретинола обнаруживала слабую тенденцию к снижению через 2, 4 и 6 недель, и достоверно снизилась через 8, особенно через 10 недель.

Введение ХЛ и 6-МТУ с ретинолом (1200 МЕ/кг) сопровождалось небольшим приростом толерантности к тромбину на 2, 4 и 6 неделе, что стало заметнее через 8 и особенно 10 недель. В группе, получавшей большую дозу ретинола (2400 МЕ/кг), рост толерантности к тромбину был интенсивнее через 2 недели (на 26%) и 10 недель (на 66%).

Таблица 16. Толерантность к тромбину крыс, получавших холестерол и 6-МТУ с рационом, не содержащим ретинол, и содержавшем его в дозах 1200 и 2400 МЕ/кг

Показатель	Контроль (ретинол по 200 МЕ/кг) (n – 21)	Крысы не получали ретинола (1-я строка), получали его в дозе 1200 МЕ/кг (2-я строка) или в дозе 2400 МЕ/кг (3-я строка). Пробы взяты через:				
		2 недели	4 недели	6 недель	8 недель	10 недель
Толерантность к тромбину, %	<b>100±2.6</b>	96.3±2.3 120±2.6* 126±2.4*	94±3.1 127±2.9*+ 132±2.4*+	95±2.3 131±2.9*+ 142±2.0*+»	84±3.6* 146±3.2*+ 154±2.7*+»	79±2.5* 155±3.5*+ 166±2.9*+

Примечание: в контроле 12 особей; в опытах по 6 на каждом этапе.

Знак \* - достоверное отличие от контроля, знак + - от значений в 1-й строке, знак « - от значений во 2-й строке

В конечном счете, введение ХЛ и 6-МТУ с рационом без ретинола вызывает значительный рост холестеролемии, сопровождающийся угнетением ЛПО и

ростом АОП. Одновременно растет в плазме крови уровень маркеров ВТФ и замедляется фибринолиз. Ретинол в дозах, превышающих суточную потребность в 6 раз, сдерживает рост уровня маркеров ВТФ и ускоряет фибринолиз. В дозе, превышающей суточную потребность в 12 раз, ретинол на фоне нарастающей холестеролемии приводит к тем же, но более выраженным сдвигам.

Результаты опытов, в ходе которых контрольные крысы получали ретинол в соответствии с суточной потребностью, а подопытные с тем же рационом ретинола не получали, позволяют количественно сопоставить динамику изменения ЛПО и АОП, характеризующую состояние в тромбоцитах ЛПО и АОП, с динамикой изменения интенсивности ВТФ (т.е. НВСК), а также толерантности к тромбину - показателя, характеризующего способность организма противостоять избыточному тромбогенезу, вызванному каким-либо воздействием [Б.А.Кудряшов, 1975; Т.М.Калишевская, 1992; Г.Г.Базазьян, 1969; А.Ш.Бышевский и др., 2003, 2005].

На рис. 1 видно, что с увеличением длительности содержания крыс на рационе без ретинола уровень ДК и ТБК растет практически линейно. Увеличивается и скорость СО, а период индукции (ПИ) сокращается.

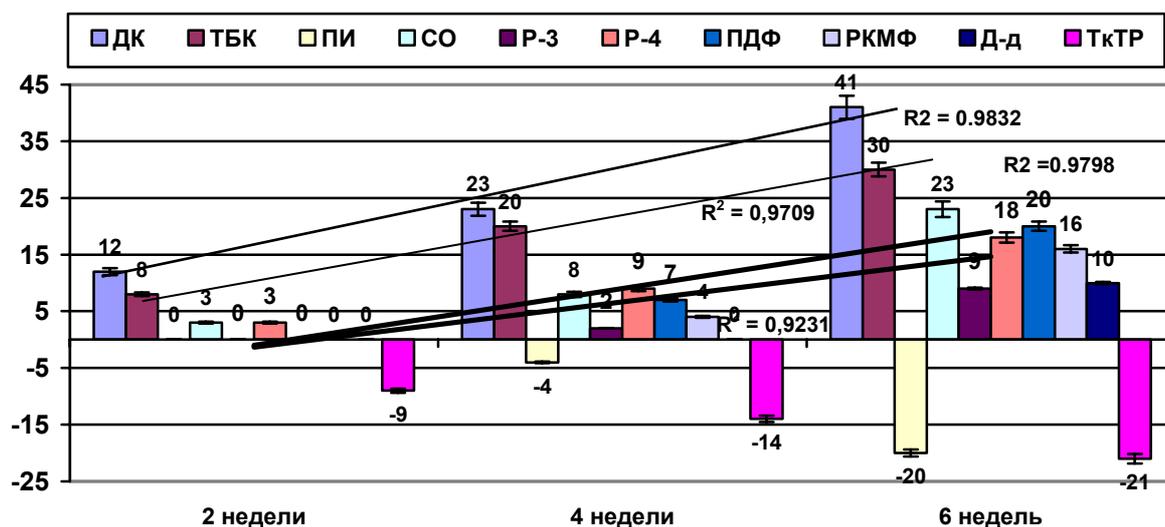


Рисунок 1 Изменения (в % к контролю) ЛПО, АОП, уровня маркеров ВТФ и толерантности к тромбину (ТкТР) при содержании крыс на рационе без ретинола. Тренды (сверху вниз) – ДК, ТБК, ПДФ и РКМФ

Одновременно растет в плазме уровень всех маркеров ВТФ. Вероятно, это следствие активации ЛПО: 1) ранее находили, что при состояниях, протекающих с гипероксидацией, возникает гиперкоагулемия, сопровождаемая повышением уровня маркеров ВТФ [В.Ф.Киричук и др., 2005; De P. Moerloose e.a., 2003]; 2) ускорение ЛПО, судя по трендам, линейно (значения  $R^2$  близки к единице для ДК и ТБК); 3) рост уровня маркеров ВТФ начинается позже, и менее выражен, чем рост уровня ДК и ТБК; 4) динамика прироста маркеров также близка к линейной -  $R^2$  мало отличается от единицы. Сходна динамика изменений АОП, а также изменения уровня, не показанных здесь маркеров - ПДФ и D-димеров. Росту скорости ВТФ (ускорению НВСК) сопутствует снижение толерантности к тромбину, наблюдающееся уже тогда, когда уровень маркеров ВТФ (исключая ф. P<sub>4</sub>) не изменен. Видимо, тест толерантности к тромбину - более чувствительно, чем уровень маркеров ВТФ, отражает способность организма

реагировать на воздействия, ускоряющие тромбогенез.

При нагрузке ретинолом в дозах, превышающих суточную потребность крыс в 4, 6 и 8 раз, выявлены противоположные сдвиги показателей состояния ЛПО (рис. 2) - снизилось содержание ДК и ТБК, удлинился ПИ, снизилась СО, уровень маркеров ВТФ и выросла толерантность к тромбину. Все сдвиги усилились с увеличением дозы ретинола и длительности нагрузки.

Следовательно, дополнительное введение ретинола угнетает ЛПО и АОП дозависимо и зависимо от длительности введения.

При увеличении дозы ретинола в 4 и 6 раз угнетению ЛПО сопутствует снижение интенсивности ВТФ - падает уровень в плазме всех показателей этого процесса. При увеличении дозы ретинола в 8 раз против суточной потребности такие маркеры ВТФ, как фф. P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, и РКМФ ещё заметнее снижаются, а уровень ПДФ и D-димеров, напротив, возрастает. Толерантность к тромбину увеличивается параллельно со снижением скорости ВТФ при всех испытанных дозах.

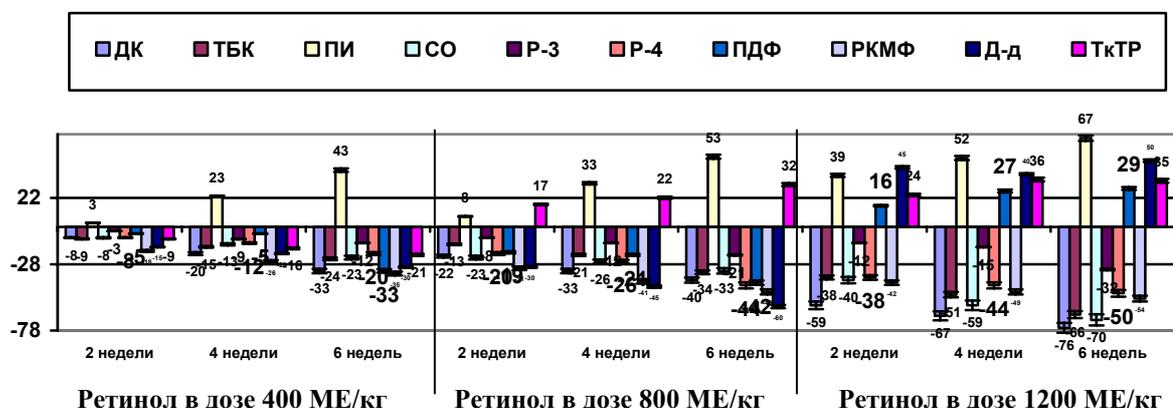


Рисунок 2 Изменения (в % относительно контроля) ЛПО, АОП, уровня маркеров ВТФ и толерантности к тромбину (ТкТР) при избыточном введении ретинола

Примечательна зависимость между уровнем ПДФ и D-димеров с одной стороны и фибринолизом с другой при высоких дозах ретинола (рис. 3).

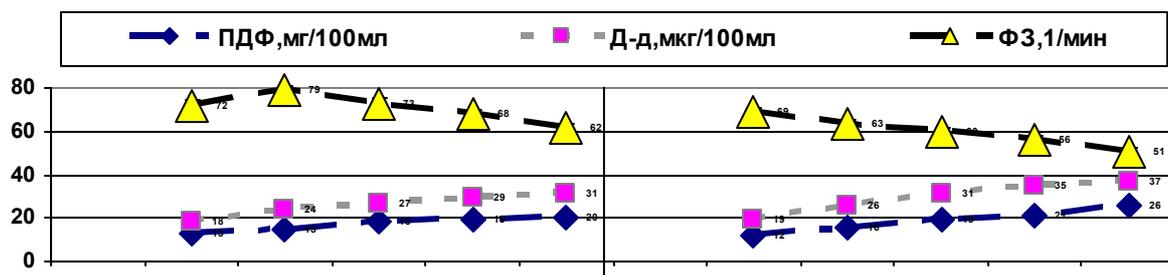


Рисунок 3. Связь между уровнем П ДФ и D-димеров в плазме крови и скоростью лизиса фибринового сгустка у крыс, получавших 1200 (слева) или 2400 МЕ/кг ретинола в сутки. Аргумент - уровни ПДФ и D-димеров на последовательных этапах опытов, функция - скорость фибринолиза (величина обратная времени лизиса сгустка) на тех же этапах опытов (неодинаковые единицы измерений потребовались для того, чтобы можно было сопоставить динамику процесса в общей системе ординат). Обозначения: ФЗ - фибринолиз

На этом основании можно допустить, что прирост уровня ПДФ и D-димеров при длительном введении высоких доз ретинола обусловлен активацией фибри-

нолиза, не связанной с влиянием витамина А на антиплазмины, которые отсутствуют в эйглобулиновой фракции плазмы. Видимо, нет противоречия в том, что дозы ретинола, превышающие суточную потребность в 4, 6 и более раз при длительном введении повышают уровень ПДФ и D-димеров в плазме. Дело в том, что эти же продукты образуются за счет ускоренной активации фибринолиза избытком витамина А.

...

**Заключая анализ полученных нами данных**, выделим главное.

Содержание животных на рационе без витамина А усиливает ЛПО и снижает АОП, повышает в плазме содержание маркеров ВТФ, следовательно, ускоряет НВСК. Введение с рационом ретинола в количестве, превышающем суточную потребность животных, дозависимо угнетает ЛПО, увеличивает АОП, снижает интенсивность НВСК. Сдвигам интенсивности НВСК сопутствуют изменения толерантности к тромбину: с ускорением НВСК толерантность к тромбину снижается, с замедлением НВСК – растет.

При введении ретинола одновременно с прооксидантом, вызываемые им сдвиги ЛПО, АОП и уровня продуктов ВТФ усиливаются, следовательно, эффект прооксиданта усугубляется. Введение одновременно с прооксидантом ретинола в дозах, превышающих суточную потребность в 2, 4 и 8 раз, ограничивает влияние прооксиданта на ЛПО, АОП и на уровень маркеров ВТФ, т.е. противодействует возникновению вызываемых прооксидантом сдвигов. При введении ретинола одновременно с антиоксидантом их эффекты на ЛПО частично суммируются, как и влияние ретинола на ВТФ.

Антагонизм в действии на ЛПО и ВТФ пары **прооксидант-ретинол** и синергизм в действии пары **антиоксидант-ретинол** позволяет утверждать, что влияние ретинола на гемостаз обусловлено его противоокислительными свойствами.

При дозах ретинола, превышающих суточную потребность в 6 и 12 раз, через 6, 8 и 10 недель увеличивается содержание тех маркеров ВТФ, уровень которых зависит не только от интенсивности ВТФ, но и от других факторов (количества образующегося фибрина и интенсивности его лизиса). Ретинол в этих дозах при достаточно продолжительном введении активизирует фибринолиз (вне связи с влиянием на активность антиплазминов), что, видимо, и является причиной роста уровня ПДФ и D-димеров при усиливающемся снижении таких маркеров ВТФ, фф. P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> и РКМФ.

Отсутствие в рационе витамина А усиливает холестеролемию вызываемую введением ХЛ и 6-МТУ, что сопровождается ускорением ВТФ и снижением толерантности к тромбину. Избыточное введение витамина А в дозах, превышающих суточную потребность в 6 и 12 раз, ограничивает эти эффекты. Видимо, влияние витамина А на уровень ХЛ в крови в этих условиях можно рассматривать, как его способность ограничивать атеросклеротические изменения, зависимые от уровня холестеролемии, или иным путем ограничивать угнетающее влияние холестеринемии на состояние противосвертывающего аппарата, в частности, за счет свойственной витамину А способности активировать фибринолиз, поскольку известно, что плазмин (фибринолизин) является компонентом противосвертывающей системы [Б.А.Кудряшов, 1975; Т.М.Калишевская и др., 1992]).

## 6. ВЫВОДЫ

1. Отсутствие витамина А в составе рациона вызывает у экспериментальных животных (белые крысы) ускорение ЛПО и снижает АОП в тромбоцитах, что сопровождается повышением плазменного содержания маркеров ВТФ, и снижением толерантности к тромбину.

2. Введение витамина А с рационом в количествах, превышающих суточную потребность крыс, дозозависимо повышает АОП, снижает интенсивность ЛПО и содержание маркеров ВТФ, повышая толерантность к тромбину.

3. Введение прооксиданта (свинца) с рационом, не содержащим витамина А, снижает АОП, ускоряет ЛПО и повышает уровень маркеров ВТФ значительно, чем на фоне рациона, содержащего витамин А в дозе, равной суточной потребности; превышающие суточную потребность количества витамина А ограничивают эти сдвиги.

4. Влияние витамина А и антиоксиданта невитаминной природы (димефосфона) на ЛПО, АОП, ВТФ и толерантность к тромбину суммируется.

5. Гиперхолестеринемия, провоцируемая одновременным введением холестерина и 6-МТУ, усиливается при отсутствии в рационе витамина А, сопровождается повышением уровня маркеров ВТФ, снижением толерантности к тромбину и угнетением Хагеман-зависимого фибринолиза; избыток витамина А в составе рациона ограничивает эти сдвиги.

6. Длительное введение с рационом витамина А в дозах, превышающих суточную потребность, ускоряет Хагеман-зависимый фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазмы.

...

Можно с большой долей вероятности утверждать, что витамин А, будучи антиоксидантом, замедляет процессы ЛПО и увеличивает АОП тромбоцитов – клеток, отличающихся высоким вкладом в поддержание свертывающего потенциала крови, и это приводит к снижению интенсивности НВСК и росту толерантности к тромбину, т.е. к повышению способности организма противостоять вызванной чем-либо гипертромбинемии. Вклад витамина А в поддержание противосвертывающих механизмов в активном состоянии связан отчасти и с его способностью активировать Хагеман-зависимый фибринолиз.

Возможно, одной из причин склонности к тромбообразованию при атеросклеротических изменениях является низкий уровень обеспеченности организма витамином А – предположение, требующее углубленных экспериментальных и клинических исследований взаимосвязи между обеспеченностью витамином А и состоянием системы гемостаза при атеросклеротических процессах.

### Список работ по теме диссертации

1. Гемостазиологические сдвиги при миоме матки и ее оперативном лечении /В.А.Полякова, Е.А.Винокурова, А.В.Пустынников и др. // Глава в монографии «Гемостаз при оперативных вмешательствах в гинекологической практике». - М.: Медицинская книга. - 2006. - С.16-23

2. Витамин А: влияние на интенсивность взаимодействия тромбин-фибриноген, толерантность к тромбину и ф.ХII-зависимый фибринолиз / **А.В. Пустынников**.// Медицинская наука и образование Урала. - 2007. - 4. - С.8.

3. Витамин А, липидпероксидация и непрерывное внутрисосудистое свертывание крови // Е.М. Шаповалова, **А.В.Пустынников**, А.Ю.Рудзевич // Электронная конференция «Экологические проблемы внутренних болезней, перинатологии и педиатрии». - Июнь,

2007

4. Тканевой фактор, его место в свертывании крови / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян, В.А.Полякова, **А.В.Пустынников** и др. // Медицинская наука и образование Урала. - 2007. - 4. - С.78-80.

5. Влияние витаминов А, Е, С и Р на уровень маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген, толерантность к тромбину и / А.Ш.Бышевский, С.Л.Галян. .... **А.В.Пустынников** и др.// **Конф. Тромбоз ..... С-Петербург. – 2007. – С.**

6. Эффекты гестагенов и эстрогенов на гемостаз (обзор) / В.А.Полякова, А.Ш.Бышевский, **А.В.Пустынников** и др.// Медицинская наука и образование Урала. - 2007. - 4. - С.81-86.

7. Взаимодействие тромбин-фибриноген, толерантность к тромбину и липидпероксидация зависят от обеспеченности витамином Е / **А.В.Пустынников**, Е.М.Шаповалова, М.К.Умутбаева // Электронная конференция «Экологические проблемы внутренних болезней, перинатологии и педиатрии».- Июнь, 2007.

8.Эффекты ретинола на гемостаз, липидпероксидацию и толерантность к тромбину при одновременном введении с прооксидантом / Е.М.Шаповалова, **А.В.Пустынников**, А.Ю.Рудзевич // Электронная конференция «Экологические проблемы внутренних болезней, перинатологии и педиатрии». - Июнь, 2007.

### Использованные сокращения

<b>А</b>	оптическая плотность
<b>АВР</b>	Активированное время рекальцификации
<b>АОП</b>	антиоксидантный потенциал
<b>ВТФ</b>	взаимодействие тромбин-фибриноген
<b>Д-Д</b>	Д-димеры
<b>ДК</b>	диеновые конъюгаты
<b>ДМ</b>	димефосфон
<b>ЛП</b>	липиды
<b>ЛПО</b>	липидпероксидация
<b>6-МТУ</b>	<b>6-метилтиоурацил</b>
<b>ПДФ</b>	продукты деградации фибрина
<b>НВСК</b>	Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови
<b>ПИ</b>	период индукции
<b>РФМК</b>	растворимые фибринмономерные комплексы
<b>СО</b>	скорость окисления
<b>ТБК</b>	продукты (продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой)
<b>ТкТР</b>	толерантность к тромбину
<b>ФГ</b>	фибриноген
<b>ХЛ</b>	холестерол

Пустынников Александр Викторович

**ВЛИЯНИЕ РЕТИНОЛА НА ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ, АНТИОКСИДАНТ-  
НЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ТРОМБОЦИТОВ, УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВЗАИМОДЕЙСТ-  
ВИЯ ТРОМБИН-ФИБРИНОГЕН В ПЛАЗМЕ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТРОМБИМУ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.00.04 – биохимия

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

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

Отпечатано в издательском центре «Академия».

Лицензия ИД № 05351 от 10.07. 2001 г.

Тюмень, ул. Одесская, 50