

УДК 57.052.115.616.151.5

## **ГЕМОСТАЗ ПРИ ОТСУТСТВИИ, ДЕФИЦИТЕ И ИЗБЫТКЕ КОБАЛАМИНА У КРЫС, СОДЕРЖАЩИХСЯ НА СБАЛАНСИРОВАННОМ ПИЩЕВОМ РАЦИОНЕ**

© 2009 А.Ш. Бышевский, П.Я. Шаповалов, Е.М. Шаповалова

Тюменская государственная медицинская академия, г. Тюмень

Поступила 12.05.2009

Рассмотрены изменения гемостаза и липидпероксидации у животных при их содержании на сбалансированном рационе питания в зависимости от количества в нем витамина В<sub>12</sub>. Охарактеризованы зависимости между толерантностью к тромбину, внутрисосудистым свертыванием крови, липидпероксидацией и антиоксидантным потенциалом

Ключевые слова. Витамин В<sub>12</sub>. Гемостаз. Липидпероксидация.

### **АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Кобаламин (витамин В<sub>12</sub>), участвует в метаболизме в виде оксикобаламина, метилкобаламина и 5-дезоксиаденозилкобаламина, содержащих разные заместители у атома кобальта (гидроксильную, метильную группу или дезоксиаденозильный радикал). Оксикобаламин - основная транспортная форма кобаламина (КБ), метилкобаламин и дезоксикобаламин - коферментные формы [28, 30]. Основное проявления дефицита КБ - нарушения кроветворения, ведущие к гиперхромной мегалобластической анемии, лейкопении, нейтропении и дегенерации задних и боковых стволов спинного мозга. Мегалобластическая анемия при дефиците КБ не связана с нарушениями его известных коферментных функций, и сходна с анемией, вызываемой дефицитом витамина В<sub>с</sub> [27].

Метаболические сдвиги при дефиците КБ связаны с его ролью в обмене белков (ускорение протеолиза и замедление синтеза белка и нуклеиновых кислот). Стимулирует КБ синтез холина, защищает сульфгидрильные соединения, регулирует отношение НАД/НАДН<sup>+</sup>, ускоряет образование акцепторов-донаторов СН<sub>3</sub>-групп, Контролирует активацию аминокислот энзимами рН-5-фракции [7].

Используют КБ в коррекции многих патологических состояний, нередко вызванных повышенным расходом витаминов В<sub>12</sub> и В<sub>с</sub> (спру, анемия беременных, анемии при злокачественных новообразованиях, энтероколитах, интоксикациях) [8]. Используется КБ в лечении атеросклероза, артериальной гипертензии, биллиарного цирроза [25], сахарного диабета 2 типа [4, 5], в кардиохирургии [4]. Лечебное применение и его результаты обсуждены в прошедшем столетии [17, 21] и в последние годы [23, 28, 35]. Ещё в 60-е гг. опубликован перечень состояний, включающий десятки нозологических единиц, в лечении которых КБ полезен [6]. Всё это свидетельствует о значении КБ в метаболизме и позволяют ожидать, что дефицит КБ

или избыток может отражаться и на состоянии гемостаза - важной системы жизнеобеспечения.

У здоровых людей КБ не изменяет общей свертываемости крови, а при гемофилии с избытком гепариноидов нормализует время свертывания, хотя на активность и потребление фактора (ф.) II не влияет [37]. Применение КБ в терапии гемофилии с замедленным потреблением ф. II нормализует время свертывания, не изменяя тромбопластической активности крови и уровня ф. II [26], т.е. влияет на свертывание крови неспецифично.

По данным ВОЗ дефицит его выявлен в разные годы у 15-45% беременных [36] с нарушениями гемостаза [20].

Показано, что введение КБ не ускоряет потребления ф. II при лучевом поражении и что В<sub>12</sub>-авитаминоз не изменяет этот процесс [1]. Введение КБ повышает концентрацию ф. X и тромбопластическую активность, однако, в иной степени и иным путем, чем витамин К [14], следовательно, механизм эффекта КБ остается не раскрытым. Обнаружилось, что при скорбуте введение КБ ограничивает тромбоцитопению и спад тромбопластической активности тромбоцитов, способствуя росту уровня протромбокиназы через ускорение тромбоцитопоза [2]. Так как КБ ускоряет синтез белка [16], наблюдающийся при его введении рост уровня ф. II можно считать результатом ускорения биосинтеза протеинов [38].

При введении КБ в дозе, эквивалентной лечебной, находили угнетение фибринолиза в эуглобулиновой фракции и в цельной плазме, снижение общей антитромбиновой активности. Одинаковая степень угнетения фибринолиза в эуглобулиновой фракции и в нефракционированной плазме исключает влияние КБ на антиплазмины, отсутствующие в эйглобулиновой фракции, не раскрывая механизмов эффекта [7]. Противоречивы эффекты КБ на холестеролемию и течение атеросклероза [6, 25, 30].

Однако можно констатировать зависимость состояния гемостаза от обеспеченности организма КБ, реализующаяся, возможно, за счет влияния КБ на тромбоцитопоз и коагулоактивность тромбоцитов. Малое число и противоречивость фактических данных, касающихся механизма действия КБ, позволяет лишь допускать, что его избыток снижает один из интегральных показателей состояния гемостаза - толерантность к тромбину. Не внесли ясности и данные последних лет о влиянии КБ на гемостаз через гипер-

---

*Бышевский Анатолий Шулимович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой биохимии. Тел. (345-2) 20-23-68. Шаповалов Пётр Яковлевич, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой гигиены с курсом экологии. Тел. (345-2) 92-10-64. Шаповалова Елена Михайловна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической и органической химии.*

гомоцистеинемию, повышающую риск тромбообразования [11, 18, 27, 32].

В целом приведенные нами сведения о связи КБ с гемостазом не позволяют сделать уверенных выводов. Выделим лишь то, что представляется достаточно обоснованным: 1. Состояние гемостаза зависит от обеспеченности организма КБ, влияющим на тромбоцитопоз, коагулоактивность тромбоцитов и плазминную систему; 2. Известны заболевания, сопровождающиеся гемостатическими сдвигами и  $V_{12}$ -гиповитаминозом, а обогащение организма больных КБ ограничивает сдвиги; 3. Результаты, полученные в эксперименте и клинике обнаружили влияние нагрузок КБ на небольшое число про-, антикоагулянтов и отдельных компонентов плазминовой системы, однако нельзя ответить на вопрос о том, как влияет дефицит или избыток КБ на гемостаз, как систему в целом или на ее субкомпоненты; 4. Представительны данные о роли КБ в развитии гипергомоцистеинемии, что предполагает возможность влияния витамина  $V_{12}$  на гемостаз, поскольку связь нарушений обмена гомоцистеина (метаболита протеиногенной аминокислоты метионина) с гиперкоагуляционными сдвигами несомненна, хотя и нуждается в уточнении; 5. Нет данных о влиянии КБ на интегральные показатели состояния гемостаза - непрерывное внутрисосудистое свертывание крови (НВСК) и толерантность к тромбину ( $TkTP$ ). Следовательно, есть основания для изучения связи витамин  $V_{12}$  - гемостаз с использованием приемов, позволяющих интегрально оценивать состояние системы свертывания крови.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проведены на белых крысах (300 особей,  $145 \pm 12.2$  г), получавших сбалансированный казеиново-крахмальный рацион, содержащий минералы и витамины согласно суточной потребности [15]. Пробы крови брали в шприц с 3,8% раствором цитрата натрия (9:1 по объему) из обнаженной *v. jugularis* у наркотизированных и фиксированных на препаровочном станке животных. Рану закрывали 2-3 швами (кетгут). В плазме определяли содержание маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген, отражающее интенсивность НВСК [12, 34]:

1. Продукты деградации фибрина (ПДФ) - по описанию [9], 2. Уровень растворимых комплексов мономерного фибрина (РКМФ) - фенантролиновым тестом [19], 3. Уровень D-димеров - латексной агглютинацией (набор «D-dimer test», Roche), 4. Уровень  $P_3$  и  $P_4$  в плазме в описании [3], Оба фактора - косвенные маркеры НВСК (их уровень в плазме пропорционален тромбинемии, ускоряющей реакцию высвобождения тромбоцитов [24]), 5. Концентрацию в плазме осаждаемого тромбином фибриногена, снижение которой при других признаках ускоренного ВТФ говорит об активации НВСК [39], определяли спектрофотометрически. Толерантность к тромбину определяли по описанию [10]. Перекисное окисление липидов в тромбоцитах и их антиоксидантный потенциал оценивали, определяя: 1. Содержание первичных липидпероксидов - диеновых конъюгат (ДК), 2. Содержание

вторичных липидпероксидов - продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), 3. Период индукции (ПИ) и 4. Скорость окисления (СО). Все названные определения проводили согласно описанию [22]. Схемы опытов приведены ниже и повторены в таблицах.

Анализ результатов проводили с помощью медико-биологической программы Biostat 4.03, используя метод вариационной статистики для малых рядов наблюдений и вычисляя среднюю арифметическую ( $M$ ), среднюю ошибку средней арифметической ( $m$ ) и среднееквадратическое отклонение ( $\sigma$ ). Для оценки достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента ( $t$ ) и степень вероятности ( $p$ ). Сопоставляя интенсивные показатели, использовали альтернативное варьирование, рассчитывая такие же статистические показатели. Взаимосвязи временных анализировали методом ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ .

**В работе использовали:** 1. Тромбин и фибриноген бычьей крови («Технология-стандарт»), 2. Тромбопластин (кадаверный лиофильно высушенный, «Технология-стандарт»). 3. Каолин (легкая фракция, «Технология-стандарт»), 4. Набор «D-dimer test» («Roche»), 5. Изопропанол - ч. (дополнительная очистка простой перегонкой), 6. Хлорбензол - ч. (дополнительная очистка простой перегонкой), 7. Бутанол - х. ч., 8. Ацетат свинца х.ч. 9. Хлорид кальция х.ч. 10. Буфер Михаэлиса (вероналовый буфер) «Технология-стандарт», 11. Цианокобаламин в ампулах по 1 мл - 200 мкг/мл (ЗАО «Уфавит»), 12. Ацетат свинца х.ч., 13. Синтетический антиоксидант димефосфон (Казань).

#### ПОЛУЧЕННЫЕ ДАННЫЕ

Влияние на липидпероксидацию (ЛПО), антиоксидантный потенциал (АОП) и гемостаз отсутствия витамина  $V_{12}$  и его введения в количествах, составляющих часть суточной потребности или превышающих её, проведены на 9 группах крыс: контрольная группа получала рацион с КБ в количестве, равном суточной потребности (1 мкг/кг), крысы одной из подопытных групп КБ не получали ( $V_{12}$ -авитаминозный рацион), крысы остальных подопытных групп получали КБ в количестве, составляющем 50% от суточной потребности или в дозах, превышающих суточную потребность в 2, 4, 6 и 12 раз (2, 4, 6 или 12 мкг/кг массы тела соответственно). Число наблюдений ( $n$ ) на этапах приводится в таблицах.

**Таблица 1.** Изменения ЛПО и АОП в тромбоцитах крыс, не получавших КБ, получавших его в количестве, равном суточной потребности, ниже потребности и в превышающих потребность в 2, 4, 8 и 16 раз (строки 1,2 и 3 соответственно через 4, 6 и 8 недель)

Показатели	Контроль (получали кобаламин по 1.0 мкг /кг), n=12	Животные получали КБ (мкг/кг):					
		0.0	0.5	2.0	4.0	8.0	16.0
ДК, А/мг ЛП	<b>0.053±0.002</b>	0.056±0.002* 0.063±0.003* 0.068±0.003*	0.056±0.004 0.058±0.002* 0.065±0.003*	0.051±0.001 0.048±0.001* 0.048±0.003*	0.049±0.005 0.049±0.003* 0.045±0.002*	0.047±0.004* 0.042±0.003* 0.035±0.003*	0.047±0.001* 0.038±0.002* 0.033±0.001*
ТБК, ед./мг ЛП	<b>0.70±0.03</b>	0.77±0.03* 0.79±0.03* 0.86±0.04*	0.73±0.03* 0.75±0.02* 0.81±0.03*	0.68±0.03 0.67±0.03* 0.65±0.03*	65±0.03* 0.56±0.03* 0.51±0.02*	0.66±0.02* 0.57±0.01* 0.48±0.01*	0.59±0.03* 0.53±0.02* 0.40±0.0*
ПИ, мин/мл	<b>45.7±1.2</b>	41.3±1.4* 39.4±1.1* 36.2±1.1*	43.9±1.3 42.3±1.1* 42.6±1.1*	47.1±1.4 50.3±1.1* 55.0±1.2*	47.9±0.8* 47.2±1.2* 42.9±1.0*	45.4±1.1 48.0±0.8* 51.1±1.0*	47.9±0.8* 51.7±1.2* 58.9±0.9*
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	<b>0.75±0.03</b>	0.80±0.02* 0.85±0.04* 0.89±0.03*	0.78±0.04 0.80±0.03* 0.78±0.02*	0.74±0.02 0.67±0.02* 0.69±0.01*	0.69±0.02* 0.64±0.03* 0.56±0.04*	0.63±0.02* 0.58±0.02* 0.49±0.03*	0.60±0.03* 0.52±0.01* 0.44±0.04*

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

**Таблица 2.** Маркеры НВСК в плазме, фибринолиз и ТкТР у крыс, не получавших витамина В<sub>12</sub>, получавших его соответственно суточной потребности, в количествах ниже потребности и превышающих потребность в 2, 4, 8 и 16 раз

Показатели	Контроль (получали кобаламин по 1.0 мкг /кг)	Животные получали КБ (мкг/кг):					
		0.0	0.5	2.0	4.0	8.0	16.0
Ф. P <sub>3</sub> , %	<b>87.9±1.1</b>	90.0±1.0 94.1±1.2* 95.4±1.5*	90.2±1.7 94.1±1.6 97.1±1.6*	86.9±1.9 83.9±1.6 90.8±1.9	85.3±1.6 88.1±1.2 91.2±1.0*	82.9±1.4 87.1±1. 93.1±1.1*	85.9±1.7 89.1±1.9 98.7±1.2*
Ф. P <sub>4</sub> , с	<b>3.3±0.01</b>	3.5±0.04 4.0±0.02* 4.8±0.03*	3.5±0.05 3.6±0.02* 4.1±0.03*	3.3±0.04 3.5±0.01 3.8±0.02	3.4±0.04 3.5±0.04 3.8±0.04*	3.6±0.05 4.0±0.09* 4.5±0.04*	3.5±0.04 4.2±0.09* 4.7±0.08*
ФГ, г/л	<b>2.1±0.02</b>	2.3±0.08 2.0±0.07 1.7±0.07*	2.1±0.12 2.3±0.08 1.8±0.06	2.2±0.07 2.0±0.05 2.1±0.08	2.2±0.06 2.0±0.03 2.1±0.06	2.3±0.07 2.1±0.04 2.0±0.05	2.0±0.05 2.3±0.05 2.1±0.04
ПДФ, мг%	<b>15.6±0.8</b>	16.5±1.4 19.0±1.1* 23.9±1.2*	16.5±1.2 17.4±1.2 19.3±1.1*	14.9±0.9 17.8±0.4 18.9±0.7	14.9±0.8 15.6±0.6 16.6±0.5*	4.5±0.9 15.7±0.9 17.8±0.4*	14.9±0.8 15.8±0.7 19.6±0.6*
РКМФ, мкг/мл	<b>24.0±1.0</b>	24.0±0.9 30.0±0.8* 34.5±0.9*	25.4±0.9 26.1±1.0* 27.0±0.3*	20.7±1.5 26.8±0.4 27.1±0.9	23.9±1.2 25.8±0.9 28.0±0.7*	27.0±1.3 25.1±0.9 28.8±0.8*	27.1±1.6 26.2±1.9 31.5±0.8*
D-Д, мкг/мл	<b>0.21±0.007</b>	0.22±0.008 0.26±0.005* 0.30±0.010*	0.21±0.014 0.24±0.006 0.27±0.005*	0.18±0.015 0.23±0.010 0.24±0.007	0.19±0.009 0.21±0.012 0.24±0.008	0.18±0.014 0.20±0.012 0.25±0.008*	0.19±0.015 0.23±0.010* 0.27±0.011*
Ф.ХПа-зависимый фибринолиз, мин	<b>8.2±0.02</b>	8.4±0.07 7.8±0.05 7.9±0.08	8.6±0.09 9.1±0.05 8.9±0.04	8.1±0.05 7.3±0.05 6.4±0.03*	7.9±0.07 6.5±0.07 5.9±0.04*	7.8±0.08 7.5±0.06 5.4±0.03*	7.9±0.07 7.7±0.09 5.1±0.06*
ТкТР, %	<b>100±2.4</b>	89.8±1.9 88.0±1.3* 85.8±1.2*	98.7±1.4 91.9±1.1* 89.0±1.3*	109±2.2 114±2.0* 119±1.9*	108±2.7 112±2.1* 122±1.8*	113±5.8 121±2.7 128±1.5*	115±5.7 119±4.6 134±1.9*

(строки 1,2, 3 и 4 - соответственно после 2, 4, 6 и 8 недель)

Обозначения здесь и далее: Ф. - фактор, ФГ - фибриноген, ПДФ - продукты деградации фибрина, РКМФ - растворимые комплексы мономерного фибрина, D-Д - D-димеры; ТкТР - толерантность к тромбину; \* - достоверное отличие от контроля

Согласно данным табл. 1, отсутствие КБ в рационе приводит к нарастающему ускорению ЛПО и снижению АОП, начиная с 4-й недели - возросли уровень липидпероксидов ДК, ТБК и увеличилась скорость

окисления (СО), удлинился период индукции (ПИ).

При введении КБ в дозе, составляющей 50% от суточной потребности, эти сдвиги ослабевали, но значения показателей не достигали величин, найденных в

контроле.

Здесь же видно, что 2-кратное (по отношению к потребности) количество КБ предупреждает сдвиги липидпероксидации, выявлявшиеся при В<sub>12</sub>-авитамином рационе, а через 6 и 8 недель снижает её скорость и удлиняет период индукции (ПИ), т.е. угнетает перекисное окисление липидов и повышает антиоксидантный потенциал.

Такова же динамика ЛПО и АОП при 4-кратном количестве КБ в рационе с той разницей, что в этом случае торможение ЛПО и рост АОП выявляется быстрее - уже через 4 недели от начала опыта, и заметнее прогрессирует в более поздние сроки.

При введении восьми- и шестнадцатикратного количества КБ динамика такова же, но более выражена: сдвиги происходят в том же направлении, что и при меньшем избытке витамина, но оказываются значительнее.

При оценке данных, приведенных в табл. 2, можно заметить, что в условиях питания В<sub>12</sub>-авитамином рационом у животных через 6 и особенно через 8 недель от начала опытов растет в плазме уровень фф. Р<sub>3</sub> и Р<sub>4</sub>. Примерно в таком же темпе увеличивается плазменный уровень ПДФ, РКМФ и D-димеров. В те же сроки наблюдается снижение толерантности к тромбину, а активность фибринолиза не изменяется.

При введении с рационом КБ в количестве, составляющем 50% от суточной потребности, все эти сдвиги менее выражены.

При введении витамина В<sub>12</sub> в двукратном против потребности количестве уровень маркеров НВСК не отличается от контрольного, обнаруживая тенденцию к росту лишь через 8 недель (о тенденции, несмотря на статистическую недостоверность сдвигов можно говорить потому, что уровень каждого из маркеров через 8 недель был выше контрольного значения, примерно на одинаковую величину).

Фибринолиз и толерантность к тромбину через 8 недель увеличились достоверно.

При введении КБ в 4-кратной дозе выявился прирост уровня маркеров НВСК к концу опытов, что стало намного заметнее при введении витамина в 8- и 16-кратном количестве. Фибринолиз у этих животных с увеличением дозы ускорялся к концу наблюдений, увеличивалась у животных и толерантность к тромбину.

Данные, полученные в рассмотренной выше серии экспериментов, не позволяют однозначно решить реализуются ли его эффекты на гемостаз благодаря антиоксидантным свойствам кобаламина. В связи с этим мы провели опыты с введением КБ на фоне проили антиоксиданта (свинца или димефосфона соответственно), пытаясь установить, влияет ли изменение скорости липидпероксидации на ответную реакцию организма, вызываемую отсутствием или избытком витамина В<sub>12</sub> в питании. В этих опытах одновременно с КБ животным ежедневно вводили с рационом

**Таблица 3.** Сдвиги ЛПО, АОП, уровня маркеров НВСК, фибринолиза и толерантности к тромбину при введении прооксиданта или антиоксиданта на фоне В<sub>12</sub>-авитамином рациона и рациона, содержащего витамин В<sub>12</sub> в соответствии с суточной потребностью (верхняя строка - через 6, нижняя - через 8 недель от начала опыта)

ацетат свинца (50 мг/кг) или димефосфон (1 г/кг в день соответственно), изучая эффекты КБ на липидпероксидацию, антиоксидантный потенциал и гемостаз

Схема опыта: 1-я группа получала рацион без КБ (В<sub>12</sub>-авитаминовый), 2-я - рацион с витамином В<sub>12</sub> (1,0 мг/кг), 3-я - рацион с ацетатом свинца (50 мг/кг), не содержащий витамина В<sub>12</sub>.

Группа 4-я получала ту же дозу ацетата свинца одновременно с КБ (1,0 мкг/кг); 5-я группа - димефосфон (1 г/кг) с В<sub>12</sub>-авитаминовым рационом; 6-я - димефосфон (1 г/кг) и витамин В<sub>12</sub> (1,0 мкг/кг).

Здесь, сопоставляя сдвиги показателей в 3-й группе со сдвигами в 1-й группе, судили о влиянии прооксиданта на липидпероксидацию и антиоксидантный потенциал при В<sub>12</sub>-авитаминовом питании. Сопоставляя сдвиги в группе 4-й и 2-й, судили об эффекте прооксиданта при его введении с рационом, содержащим КБ в количестве, равном его суточной потребности. Сравнимая сдвиги в 5-й и 1-й группах, судили об эффекте антиоксиданта у крыс, получавших В<sub>12</sub>-авитаминовый рацион.

Сравнение сдвигов в группах 6-й и 2-й позволяло выявить эффект прооксиданта в условиях, когда рацион содержал КБ в соответствии с суточной потребностью. Отбор проб проводили через 6 и 8 недель (т.е. на высоте эффекта, вызываемого введением КБ).

Результаты опытов приведены в табл. 3. Сопоставляя здесь цифры, представленные в столбцах 1 и 2, видим, что В<sub>12</sub>-авитаминовое питание ускоряет липидпероксидацию, снижает антиоксидантный потенциал, интенсифицирует НВСК, не влияет на фибринолиз и несколько снижает толерантность к тромбину, как это было установлено предыдущим экспериментом (табл. 1 и 2) и воспроизвелось в обсуждаемом опыте (степень отклонения данных таблиц 1 и 2 от соответствующих данных табл. 3 составляет 2-4%, что ниже, чем пределы ошибки определений).

Сравнивая данные столбцов 3 и 1, видим, что введение прооксиданта (свинца) усиливает сдвиги, возникающие при отсутствии в рационе КБ. Сопоставляя данные столбцов 4 и 3, видим, что эффект свинца на фоне витамина В<sub>12</sub>, вводимого в количестве, равном потребности, ограничивается витамином.

Сравнивая данные столбцов 5 и 1, видим, что антиоксидант (Димефосфон) ослабил изменения, вызываемые потреблением В<sub>12</sub>-авитаминового рациона по всем показателям, сблизив, хотя и не выровняв их значения с контрольными. Сравнивая столбцы 6 и 2, находим, что димефосфон снизил интенсивность липидпероксидации, повысил антиоксидантный потенциал, снизил уровень маркеров НВСК, повысил толерантность к тромбину - т.е. оказал воздействие, противоположное влиянию на эти величины прооксиданта, не изменив активности фибринолиза. Рассмотренные данные, их математический анализ (вариационная

Показатели	Группа 1 (без КБ), n=11	Группа 2 (1,0 мкг/кг КБ), n=6	Группа 3 (без КБ+ сви- нец) n=6	Группа 4 (1,0 мкг/кг КБ+ свинец), n=6	Группа 5 (без КБ +димефос- фон), n=6	Группа 6 (1,0 мкг/кг КБ+димефосфон )n=6
ДК, А/мг ЛП	0.066±0.002* 0.070±0.004*	0.054±0.002 0.053±0.003	0.092±0.004* 0.101±0.007*	0.061±0.004+ 0.063±0.002+	0.062±0.004^ 0.068±0.007^	0.050±0.004# 0.045±0.004#
ТБК, ед./мг ЛП	0.60±0.03* 0.87±0.03*	0.70±0.03 0.073±0.004	1.37±0.06* 1.58±0.07*	0.83±0.07+ 0.83±0.07+	0.87±0.05^ 0.89±0.007^	0.55±0.03# 0.69±0.04#
ПИ, мин/мл	39.2±1.0* 35.9±1.2*	45.5±1.3 46.0±1.9	26.3±1.3* 22.9±1.8*	35.3±1.7+ 42.1±1.6+	37.0±0.6^ 34.8±1.1^	46.7±1.1# 48.9±1.0#
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	0.86±0.06* 0.91±0.04*	0.76±0.03 0.75±0.04	1.27±0.06* 1.51±0.004*	0.86±0.09+ 0.96±0.05+	0.78±0.06^ 0.88±0.076^	0.70±0.02# 0.68±0.04#
Ф. Р <sub>3</sub> , %	94.3±1.1* 95.6±1.2*	99.1±1.5 99.0±1.4	108±1.4* 126±2.0*	103±1.5+ 112±1.8+	95.0±1.3^ 95.9±1.3^	85.5±1.2# 83.9±1.0#
Ф. Р <sub>4</sub> , с	4.0±0.02* 4.8±0.03*	3.6±0.05 4.0±0.04	4.7±0.05* 5.9±0.09*	4.2±0.06+ 4.7±0.06+	3.7±0.06 4.4±0.02^	3.1±0.01# 2.8±0.02#
ФГ, г/л	2.0±0.07 1.7±0.07*	2.0±0.08 1.9±0.01	1.6±0.04* 1.0±0.04*	2.0±0.03 2.2±0.04	2.1±0.03 1.7±0.03	2.1±0.03 2.0±0.03
ПДФ, мг%	19.0±1.1* 23.9±1.2*	17.3±1.1 19.9±1.0*	22.9±1.3* 29.9±1.5*	22.5±0.7+ 23.8±1.6+	18.0±0.3^ 19.8±1.1^	14.2±0.6# 13.7±0.4#
РКМФ, мкг/мл	30.0±0.8* 34.5±0.9*	26.4±1.2 27.4±0.8	34.8±1.9* 40.4±1.9*	26.8±0.9+ 29.0±0.5+	28.0±0.7^ 32.9±0.5^	20.3±0.7# 19.4±0.5#
Д-Д, мкг/мл	0.26±0.005* 0.30±0.010*	0.25±0.003 0.28±0.005	0.35±0.008* 0.37±0.003*	0.24±0.006+ 0.30±0.008+	0.24±0.008 0.27±0.003^	0.21±0.005# 0.18±0.002#
Ф.ХШа- зависимый фибрино- лиз, мин	7.8±0.05 7.9±0.08	8.2±0.02 8.8±0.09	15.8±0.06* 16.3±0.05*	14.0±0.08* 13.9±0.08*	7.9±0.07 8.4±0.04	8.5±0.04 8.4±0.01
ТкТР, %	88.0±1.3* 85.8±1.2*	100±1.5 100±1.6	66.0±1.2* 52.9±1.5*	69.0±1.3+ 65.1±1.6+	99.5±1.1 96.8±2.7	109±1.7 121±1.5#

Обозначения: как в табл. 1 и 2-й; знак \* - достоверные отличия от величин, найденных в соответствующие сроки в группе 2-й от группы 1-й, знак ° - в группе 3-й от группы 1-й, знак + - в группе 4-й от группы 2-й, знак ^ - в группе 5-й от группы 1-й, знак # - в группе 6-й от группы 2-й. КБ - кобаламин (витамин В<sub>12</sub>).

статистика, альтернативное варьирование и метод ранговой корреляции Спирмена) позволяют или сделать следующие выводы:

1. Отсутствие и дефицит в сбалансированном рационе КБ пропорционально длительности воздействия снижают антиоксидантный потенциал, ускоряют ЛПО, НВСК и уменьшает толерантность к тромбину.

2. Избыток КБ в количестве, эквивалентном лечебным дозам, замедляет ЛПО, НВСК, ускоряет Хагеман-зависимый фибринолиз и увеличивает толерантность к тромбину.

3. Интенсивность НВСК в отсутствии или избытке КБ тесно отрицательно ассоциирована со скоростью ЛПО и с толерантностью к тромбину, а толерантность к тромбину тесно положительно ассоциирована с фибринолизом.

Таким образом, витамин В<sub>12</sub>, обладающий антиоксидантными свойствами, модифицирует липидпероксидацию в тромбоцитах, синтезирующих и депонирующих ряд факторов, способных инициировать гиперкоагулемию, ускорять внутрисосудистое свертывание крови и снижать способность организма реагировать на тромбин и на воздействия, ускоряющие тромбогенез. Следовательно, необходимо продолжить углубленные исследования связи между В<sub>12</sub>-витаминной обеспеченностью организма и эффекты КБ при заболеваниях, сопровождающихся склонностью к тромбофилии и кровоточивости, тем более что в их лечение нередко включают этот витамин.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев Г.В., Кудряшов Б.А. Изменения тромбопластической активности крови при введении в организм животных витамина В<sub>12</sub> / ДАН СССР. 1955. Т.102, № 4. С. 787-789
2. Андреев Г.В., Сытина Н.П. Зависимость тромбопластической активности крови морских свинок от поступления аскорбиновой кислоты // Пробл. свертывания и переливания крови. 1959. № 10. С. 26-29.
3. Балуда В.П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск: ТГУ, 1980. 310 с.
4. Баркаган З.С. и др. Нарушение обмена гомоцистеина у больных сахарным диабетом 2 типа // Тромбоз, гемостаз и реология. 2006. № 3(27). С. 20-24.
5. Баркаган З.С. и др. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор риска поражения и тромбирования кровеносных сосудов // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2002. № 1. С.65-71
6. Бреженер С.М. Витамины. М.: Медицина, 1966. 420 с
7. Бышевский А.Ш. Витамины и гемокоагуляция. Свердловск: Средне-Уральское книжное издательство, 1978. 124 с
8. Бышевский А.Ш., Кожжевников В.Н. Витамины и здоровье женщины. Красноярск: КГУ, 1991. 192 с
9. Бышевский А.Ш. и др. Способ определения содержания продуктов деградации фибрина: А.С. № 1659855, 1.03. 1991 г, публикация в Бюлл. № 24, 30.06. 1991
10. Бышевский А.Ш. и др. Способ определения толерантности животных к тромбину. Патент РФ № 2219546, 20.12.2003
11. Васильев С.А., Виноградов В.Л. Роль наследственности в развитии тромбозов // Тромбоз, гемостаз и реология. 2007. № 3. С. 3-14.
12. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: ФЭН АНТ, 2000. 367 с
13. Кудряшов Б.А. Биологические проблемы регуляции жидкого

- состояния крови. М.: Медицина, 1975. 488 с.
14. *Кудряшов Б.А.* и др. Изменения тромбопластической активности и концентрации протромбина в крови животных при введении им повышенных доз витамина B<sub>12</sub> // Научн. доклады Высшей школы. Биол. Н. 1960. № 4. С. 97-99
  15. *Курицын О.Я.* Инструкция по приготовлению основной диеты для крыс // Институт питания АМН СССР. М., 1952- 5 с
  16. *Лавров Б.А.* Роль витаминного фактора в установлении реактивных способностей организма // Современные вопросы медицинской науки. М., 1957. С. 26-27.
  17. *Мецлер Д.* Биохимия. М.: Мир, 1980. Т. II. С 606.
  18. *Мирсаева Г.Х.* и др. Влияние ПОЛ на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. 2002. № 1. Приложение № 1. С.92-93
  19. *Момот А.П.* и др. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста Клини. лабор. Диагностика. 1999. № 4. С. 17-20.
  20. *Репина М.А.* Системная энзимотерпия в акушерстве и гинекологии. С-Петербург, 1996. 42 с.
  21. *Спиричев В.Б.* Врожденные нарушения обмена витаминов. М.: Медицина, 1977. 216 с
  22. *Ушкалова В.Н.* и др. Свободнорадикальное окисление липидов в эксперименте и клинике. Тюмень: ТГУ, 1997. С. 5-21
  23. *Шараев П.Н.* Витамины и здоровье. Ижевск: «Экспертиза», 2004. 108 с
  24. *Шутикова А.С.* Тромбоцитарный гемостаз. Санкт-Петербург, 2000. 222 с
  25. *Biagini M.R.* e.a. Hyperhomocysteinemia and hypercoagulability in primary biliary cirrhosis // World J. Gastroenterol. 2006. V. 14. № 12(10). P. 1607-1612
  26. *Camera A., Baffi E.* Sullempiego della vitamin B<sub>12</sub> in alcuni emofilici // Boll.soc. ital. Sperim. 1955. V. 31. № 6. P. 612-614
  27. *Corti R.* e.a. Fenofibrate induces plaque regression in hypercholesterolemic atherosclerotic rabbits: in vivo demonstration by high-resolution MRI // Atherosclerosis. 2007. V 190(1). P. 106-113.
  28. *Durga J.* e.a. Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial // Lancet. 2007. V. 20. 369(9557). P. 208-216.
  29. *Gonin J.M.* e.a. Controlled trials of very high dose folic acid, vitamins B<sub>12</sub> and B<sub>6</sub>, intravenous folinic acid and serine for treatment of hyperhomocysteinemia in ESRD Gonin // J. Nephrol. 2003. № 16(4). P. 522-534.
  30. *Herrmann W.* e.a. Vitamin B<sub>12</sub>-status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians // Am. J. Clin. Nutr. 2003 № 78(1). P.131-136.
  31. *Klerk M.* e.a. Effect of homocysteine reduction by B-vitamin supplementation on markers of clotting activation Verbruggen // Thromb. Haemost. 2002. № 88(2). P.230-235
  32. *Khan S., Dickerman J.D.* Hereditary thrombophilia // Thromb. J. 2006. № 4. P. 15-38.
  33. *Koehler K.M.* e.a. Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women // J. Am. Coll. Nutr. 1996. № 5(4). P.364-376.
  34. *Levi M.* e.a. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology // Ann. Med. 2004. V. 36. № 1. P.41-49
  35. *Morel C.F.* e.a. Combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (cblC): phenotype-genotype correlations and ethnic-specific observations // Mol. Genet. Metab. 2006. № 88(4). - P. 315-421.
  36. *Murphy M.M.* e.a. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring // J. Nutr. 2007. № 137(8). P. 863-867.
  37. *Sotgiu G., Lenzi G* Effecto antiemofilice della B<sub>12</sub> // Haematol. 1953. № 37. P.321-328
  38. *Tsai S.Y.* e.a. Injury-induced Janus kinase/protein kinase C-dependent phosphorylation of growth-associated protein 43 and signal transducer and activator of transcription for neurite growth in dorsal root ganglion.. // Neurosci. Res. 2007. 1. 85(2). P. 321-331.
  39. *Wada H.* e.a. The diagnosis and treatment of the DIC-syndrome // Тромбоз, гемостаз и реология. 2003. № 1. С. 16-22.

## HEMOSTASIS AT ABSENCE, DEFICIENCY AND SURPLUS VITAMIN B<sub>12</sub> AT THE RATS CONTAINED OF THE BALANCED DIET

© 2009 A.S. Byshevsky, P.J. Shapovalov, E.M. Shapovalova

Tyumen state medical academy, с. Tyumen

Changes of a hemostasis and peroxidation of lipids at animals are considered at their maintenance on the balanced diet depending on quantity{amount} in it of vitamin. Dependences between tolerance to thrombin, intravascular curtailing of blood, peroxidation of lipids and antioxidant in potential are characterized

Key words. Vitamin B<sub>12</sub>. Hemostasis. Peroxidation of lipids.

*Byshevsky Anatoly Shulimovich*, the doctor of medical sciences managing faculty of biochemistry. Ph. (345-2) 20-23-68. *Shapovalov Peter Jacovlevich*, the doctor of medical sciences managing faculty of hygiene with a rate of ecology. Ph. (345-2) 92-10-64. *Shapovalova Elena Mihajlovna*, the candidate of pharmaceutical sciences, the senior lecturer of faculty of analytical and organic chemistry. Ph. (345-2) 92-10-64. 625023.