

УДК 57.052:115:616.151.5

## **ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЯ И ГЕМОСТАЗ У АСКОРБАТЗАВИСИМЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИХ СОДЕРЖАНИИ НА РАЦИОНЕ БЕЗ АСКОРБАТА, С ЕГО ДЕФИЦИТОМ И ИЗБЫТКОМ**

© 2009 Е.М. Шаповалова

Тюменская государственная медицинская академия

Поступила 22.06.2009

Рассмотрены различия в реакции липидпероксидации и гемостаза у аскорбатзависимых и аскорбатнезависимых организмов на отсутствие, дефицит и избыток витамина С в питании. Обсуждается значение этих данных в выбор доз витамина С при лечении заболеваний, протекающих с явлениями гипероксидации и наклоном к ускоренному тромбинообразованию.

Ключевые слова: аскорбат. Липидпероксидация, гемостаз.

### **АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Несмотря на большое число наблюдений, одни из которых свидетельствует о влиянии аскорбата на коагулоактивность тромбоцитов [1, 14, 32], другие – о его влиянии на уровень отдельных, нередко единичных, про- или антикоагулянтов [26, 27, 28, 33, 34], остаются неясным, как отсутствие, дефицит и избыток в питании витамина С сказывается на готовности организма адекватно реагировать на воздействия, изменяющие тромбиногенез, следовательно, и склонность к кровоточивости или к тромбофилии [2, 12, 36]. Приблизиться к решению этой проблемы представляется возможным при соблюдении таких условий: 1. Использовать в опытах аскорбатзависимых животных (в противном случае результаты опытов нельзя относить к человеку), 2. Использовать в опытах рацион, сбалансированный по макро- и микронутриентам, так как эффект витаминов существенно зависит от полноценности питания [25, 32], 3. Контролировать гемостаз тестами, позволяющими оценить непрерывное внутрисосудистое свертывание крови (НВСК) и толерантность к тромбину (ТкТР), изменения которых указывают на развитие склонности к тромбообразованию или к кровоточивости. 4. Наряду с оценкой гемостаза важно контролировать состояние липидпероксидации в тромбоцитах, так как изменения этого процесса в них модифицирует гемостаз [8], в то время как аскорбат проявляет себя в малых дозах в качестве антиоксиданта, а в больших – прооксиданта, следовательно, этим может определяться дозозависимость эффекта аскорбата на свертываемость крови [9, 18].

Цель нашей работы - изучить динамику изменений НВСК, коагулоактивности тромбоцитов, толерантности к тромбину (ТкТР), липидпероксидации (ЛПО) и антиоксидантного потенциала (АОП) тромбоцитов в отсутствие, при дефиците и избытке витамина С в рационе аскорбатзависимых и независимых от него животных.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Опыты проведены на морских свинках-самцах (294, 272±27 г) - корректном объекте для моделей С-гипо- и С-авитаминоза [17, 23] и аскорбатнезависимых белых крысах. В связи с зависимостью гемостаза от метеофакторов и сезона [7] во все опыты включали контрольную группу. Содержали свинку на рационе, обеспечивающем прогрессирующий прирост массы тела и приплод: сено, свёкла, овес, морковь, печеный хлеб, молоко, дрожжи и водопроводная вода - полноценный рацион [13]. Содержание витамина С в суточной порции такого рациона (по результатам определений) составляет 5.5 мг/кг массы тела, что близко к расчетной величине, установленной по таблицам химического состава пищевых продуктов. Рацион без витамина С содержал те же продукты, но сено, свёклу и морковь предварительно автоклавировали, а молоко - кипятили (согласно рекомендациям Всесоюзной конференцией по витаминам, М., 1934). После обработки витамин С в составе рациона не находили – это *С-авитаминный рацион*. Как *С-гиповитаминный* рацион использовали *С-авитаминный*, ежедневно добавляя к нему 25, 50 или 75% аскорбата от суточной потребности (т.е. от 5.5 мг на кг массы тела в сутки). Источниками витамина А и каротина в С-авитаминном рационе являлись морковь, молоко и сено, практически не разрушающиеся при использованной обработке [21]. Суточную потребность в витаминах группы В, РР и D обеспечивали высушенные на свету дрожжи (0.4 г/кг массы тела). Источник витамина Е - овес (его количество в рационе не ограничивали). Такие рационы использовались ранее при изучении гемостаза [3, 5, 14]. При изучении эффекта нагрузок аскорбатом свинкам вводили на фоне полноценного рациона его двух-, трёх-, четырехкратные и большие суточные дозы аскорбата (водный раствор глазной пипеткой в полость рта в утренние часы).

Крысы получали сбалансированный казеиново-крахмальным рационом, содержащий минералы и витамины в соответствии с суточной потребностью [16]

---

Шаповалова Елена Михайловна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической и органической химии. Тел (345-2) 92-10-64

Пробы крови брали в шприц с 3,8% раствором цитрата натрия (9:1 по объему) из обнаженной в. jugularis у наркотизированных и фиксированных на препаровочном станке животных. Рану закрывали 2-3 швами (кетгут). В плазме крови определяли содержание маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген (ВТФ), отражающее интенсивность НВСК [3, 12, 20, 30]: 1. Продукты деградации фибрина (ПДФ) - маркеры ВТФ [36] - определяли по описанию [6], 2. Уровень растворимых комплексов мономерного фибрина (РКМФ), увеличивающийся при росте гемокоагуляции [26, 36], определяли фенантролиновым тестом [18], 3. Уровень D-димеров - маркеры фибринообразования [9, 30] - устанавливали латексной агглютинацией (набор «D-dimertest», Roche), 4. Уровень ф. P<sub>3</sub> в плазме - по Rabiner & Groder в описании [2]. 5. Ф. P<sub>4</sub> - также по описанию [2]. Факторы P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub> - косвенные маркеры ВТФ, их уровень в плазме пропорционален уровню тромбина, ускоряющего реакцию высвобождения тромбоцитов [27], 6. Концентрацию в плазме осаждаемого тромбином фибриногена (её снижение при других признаках ускоренного ВТФ свидетельствует об активации НВСК [36]) - определяли спектрофотометрически [4].

**Толерантность к тромбину** устанавливали согласно патенту [8] методом, основанным на оценке степени снижения в плазме уровня фибриногена, осаждаемого тромбином. Расчет - по формуле, приведенной в описании к патенту.

**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).

Использовали изолированные и отмыемые тромбоциты [22]. Количество диеновых конъюгат (ДК) устанавливали по оптической плотности ( $\lambda = 232$  нм) гептановой фазы. Количество продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-продукты), определяли флуорометрически [24]. Интенсивность флуоресценции возбуждения определяли при помощи флуориметра «Биан 130». Кинетические величины прямого инициированного окисления липидов молекулярным O<sub>2</sub> в присутствии динитрилазобисизомасляной кислоты (инициатора свободнорадикального окисления) также определяли в экстрактах. Выражали период индукции (ПИ) как время, затрачиваемое на поглощение пробой 25 мм<sup>3</sup> O<sub>2</sub>, а скорость окисления (СО) – углом наклона линейного участка кинетической кривой. Схемы опытов - перед описанием каждой серии (и в таблицах).

## АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

Математическую обработку результатов прово-

дили с помощью медико-биологической программы Biostat 4.03 [11], используя вариационную статистику для малых рядов наблюдений и вычисляя среднюю арифметическую (M), среднюю ошибку средней арифметической (m) и среднеквадратическое 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. Различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ .

**В работе использованы:** 1. Тромбин и фибриноген бычьей крови («Технология-стандарт»), 2. Тромбопластин (кадаверный лиофильно высушенный, «Технология-стандарт»). 3. Каолин (легкая фракция фирмы «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 «Технология-стандарт», 11. Витамин С (Hemofarm D.D.)

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Схема и результаты опытов 1-й серии представлены табл. 1, где видно, что без аскорбата в рационе у животных уже через 2 недели в тромбоцитах растет уровень липидпероксидов. Сокращение периода индукции (ПИ) выявилось через 4 и заметнее через 6 и 8 недель от начала опыта. Рост скорости индуцированного окисления (СО) и рост уровня липидпероксидов обнаруживается через 4 недели, прогрессируя до конца наблюдений. При поступлении с рационом аскорбата в количестве, составляющем 25% от потребности, динамика сдвигов ЛПО сохраняется, однако прирост уровня липидпероксидов менее выражен. С увеличением количества аскорбата до 50% и особенно до 75% от потребности замедление прироста липидпероксидов ещё значительнее. Так, при количестве, составляющем 75% от потребности, сдвиги обнаруживаются лишь через 8 недель, не превышая найденных через 2 недели на фоне питания С-авитаминозным рационом.

С увеличением количества витамина С в рационе (в 2 раза выше потребности - 11.0 мг/кг) уже через 4 недели падает в тромбоцитах уровень ДК, ТБК и скорость окисления, удлиняется период индукции (ПИ). После 6 и особенно 8 недель от начала опыта сдвиги в том же направлении усиливаются (заметнее снижается уровень ДК, ТБК и удлиняется ПИ, заметнее снижалась и скорость окисления).

С увеличением количества аскорбата в 4 раза от потребности отклонения до 6-й недели не выявлялись, а через 8 недель уровень липидпероксидов ДК и ТБК оказался выше контрольных значений, сократился период индукции, и повысилась ско-

рость окисления. При введении аскорбата в количестве, превышающем потребность в 8 раз, тенденция роста содержания липидпероксидов и скорости окисления, наряду с тенденцией к укорочению периода индукции, выявились через 6 недель, и отклонение в этом случае оказалось выше, чем при 4-

кратной дозе аскорбата после 8 недель введения. Примерно такие же сдвиги вызвало 16-кратное количество витамина С в рационе, однако появлялись они быстрее - после 6 недель (исключение составил только сдвиг периода индукции, который обнаружился лишь после 8 недель опыта).

**Таблица 1.** Изменения ЛПО и АОП в тромбоцитах морских свинок не получавших витамина С, получавших его в количестве, равной потребности, ниже потребности и в превышающих потребность в 2, 4, 8 и 16 раз (строки 1,2, 3 и 4 - соответственно после 2, 4, 6 и 8 недель)

Показатели	Контроль (получали аскорбат по 5.5 мг/кг), n=10	Животные (n – 5 на каждом этапе) получали АК (мг/кг массы тела) в дозах:							
		0.0	1.375	2,75	4,125	11,0	22,0	44,0	88,0
ДК, А/мг ЛП	0.079±0.06	0.083±0.002*	0.082±0.005	0.080±0.007	0.079±0.004	0.074±0.007	0.078±0.009	0.081±0.009	0.076±0.005
		0.086±0.004*	0.083±0.006	0.081±0.006	0.077±0.005	0.069±0.009*	0.083±0.008	0.077±0.007	0.077±0.004
		0.097±0.004*	0.089±0.004*	0.084±0.003*	0.080±0.002	0.063±0.005*	0.079±0.011	0.074±0.007	0.084±0.008*
		0.099±0.005*	0.094±0.005*	0.086±0.003*	0.083±0.004*	0.059±0.006*	0.086±0.009*	0.089±0.004*	0.090±0.008*
ТБК, ед./мг ЛП	0.47±0.02	0.48±0.01	0.48±0.01	0.47±0.01	0.48±0.09	0.50±0.03	0.48±0.07	0.47±0.08	0.48±0.04
		0.53±0.04*	0.51±0.04	0.51±0.02	0.45±0.07	0.43±0.04*	0.46±0.09	0.49±0.09	0.55±0.05*
		0.58±0.02*	0.56±0.02*	0.55±0.06	0.47±0.08	0.40±0.03*	0.52±0.08	0.50±0.07	0.59±0.04*
		0.62±0.03*	0.61±0.10*	0.57±0.03*	0.52±0.02*	0.37±0.05*	0.55±0.06*	0.57±0.03*	0.58±0.05*
ПИ, мин/мл	70.1±2.00	73.1±1.06	71.5±1.04	68.2±1.05	72.5±1.07	74.5±1.02	74.2±1.07	71.6±1.06	70.3±2.05
		65.2±1.04*	66.4±2.06	67.1±1.08	73.2±1.06	77.9±1.07*	72.7±1.06	69.3±2.07	68.7±1.02
		63.3±1.01*	64.3±1.14	65.5±1.19	68.7±1.09	82.6±1.09*	75.5±1.11	67.4±1.10	67.9±1.10
		55.6±1.04	57.2±1.04*	59.0±1.05*	71.1±1.03	87.8±1.10*	64.0±1.03*	60.2±1.03*	66.2±1.06*
СО, мм <sup>3</sup> /мл/мин	0.68±0.04	0.72±0.07	0.69±0.08	0.67±0.06	0.71±0.04	0.67±0.04	0.64±0.06	0.60±0.06	0.67±0.03
		0.77±0.05*	0.74±0.07	0.70±0.07	0.72±0.06	0.62±0.04*	0.66±0.05	0.59±0.05	0.69±0.02*
		0.82±0.04*	0.78±0.05*	0.71±0.06	0.74±0.08	0.55±0.09*	0.70±0.11	0.73±0.09	0.70±0.05*
		0.90±0.02*	0.80±0.03*	0.77±0.06*	0.76±0.04*	0.51±0.04*	0.75±0.02*	0.78±0.06*	0.68±0.07*

Обозначения: ДК – диеновые конъюгаты, ТБК – липоперекиси, взаимодействующие с тиобарбитуровой кислотой, ПИ – период индукции, СО – скорость окисления, ЛП – липид

Отсутствие аскорбата в рационе ведет к ускорению липидпероксидации, выявляющемуся уже через 2 недели после перехода на С-авитаминовый рацион, и нарастающему в дальнейшем. Количество аскорбата, составляющие часть суточной потребности, ограничивают эти сдвиги и отодвигают сроки их наступления в степени, пропорциональной дозе. Двукратный избыток витамина С в питании предупреждает появление сдвигов ЛПО, а при использовании его в течение четырёх недель в небольшой степени тормозит её и повышает АОП тромбоцитов. Четырёхкратный избыток аскорбата к концу наблюдений ускоряет ЛПО и снижает АОП тромбоцитов лишь после 8 недель. Аналогично влияет и 8-кратная доза, действие которой чуть более выражено, чем 4-кратной. Доза аскорбата, превышающая потребность в 16 раз, ускоряет ЛПО и снижает АОП заметнее, чем 8-кратная доза.

Данные табл. 2, полученные у этих же свинок и в те же срок при изучении уровня маркеров НВСК и толерантности к тромбину. Видно, что у свинок, рацион которых лишен витамина С, через 2, 4 и 6 недель от начала опыта повышен уровень факторов (фф.) P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>. К концу 8 недели их содержание оказалось ниже контрольного значения. Снижается через 6 и заметнее через 8 недель и уровень фибриногена. Уровень ПДФ, несколько увеличившийся к концу 6-й недели, через 8 недель оказывается ниже контрольного значения. Уровень РКМФ возрос уже через 4 недели, но через 8 недель также упал ниже контрольной величины. Ниже контрольного к концу опыта оказался и уровень D-димеров. Толерантность к тромбину, снизилась против контроля через 6 недель (на 14%) и через 8 недель (на 37%, p<0.05).

**Таблица 2.** Интенсивность НВСК, фибринолиз и ТкТР у свинок не получавших аскорбата, получавших его в дозе, равной суточной потребности, в дозах, ниже потребности и в дозах, превышающих потребность в 2, 4, 8 и 16 раз (строки 1,2, 3 и 4 - соответственно после 2, 4, 6 и 8 недель опыта)

Показатели	Контроль (5.5 мг/кг)	Свинки (n – 5 на каждом этапе) получали АК (мг/кг массы тела) в дозах:							
		0,0	1,375	2,75	4,125	11,0	22,0	44,0	88,0
Ф. Р <sub>3</sub> , %	80.2±1.3	84.0±1.0* 85.7±1.1* 85.9±1.0* 70.0±1.3*	81.2±1.1 84.0±1.6 84.9±1.1* 73.6±1.0*	82.0±1.0 85.6±1.5 82.4±2.3 75.1±0.8*	80.9±1.0 84.0±1.2 85.9±1.4 77.3±1.0*	83.6±1.4 85.4±1.6 85.1±1.7 87.0±1.8*	82.7±1.3 84.1±1.6 86.1±1.9 88.3±1.1*	84.4±1.9 86.7±2.1 89.7±1.0* 89.9±1.3*	87.±2.8 86.4±1.9 85.0±1.8 91.6±1.9*
Ф. Р <sub>4</sub> , с	3.0±0.02	3.4±0.06 3.6±0.03* 3.7±0.03* 2.5±0.02*	3.3±0.04 3.4±0.07 3.5±0.04 2.7±0.02*	3.0±0.02 3.2±0.05 3.3±0.08 2.8±0.01*	3.0±0.05 3.1±0.04 3.3±0.07 2.9±0.04	3.2±0.09 3.4±0.09 3.5±0.11 3.6±0.07*	3.4±0.05 3.2±0.06 3.4±0.09 3.7±0.06*	3.6±0.09 3.5±0.07 4.1±0.07* 4.2±0.06*	3.7±0.06 3.6±0.07 3.7±0.08 4.3±0.07*
ФГ, г/л	2.4±0.02	2.2±0.07 2.1±0.11 1.9±0.04* 1.5±0.02*	2.2±0.11 2.2±0.17 2.1±0.06 1.9±0.01*	2.1±0.11 2.2±0.14 2.3±0.08 2.1±0.03	2.0±0.10 2.2±0.11 2.1±0.11 2.2±0.09	2.1±0.08 2.0±0.09 2.2±0.08 2.2±0.12	2.1±0.09 2.2±0.06 2.2±0.06 2.6±0.03	2.2±0.05 2.3±0.07 2.4±0.05 2.7±0.09*	2.2±0.04 2.2±0.07 2.5±0.06 3.0±0.06*
ПДФ, мг%	14.1±0.8	14.2±1.3 14.9±1.1 16.0±0.7* 11.5±0.7*	14.7±1.1 15.3±1.0 15.9±1.0* 12.1±0.4*	15.1±1.1 15.6±1.0 14.0±0.6 12.8±0.7*	15.0±1.9 15.1±1.3 14.7±0.9 14.3±0.5	14.6±1.4 14.7±1.2 15.0±1.3 15.9±0.9*	14.4±1.2 14.7±1.1 15.2±1.0 16.4±0.9*	15.0±1.3 15.1±0.8 16.1±0.6 17.3±0.8*	15.4±1.1 16.0±0.9 17.2±1.4 18.4±0.9*
РКМФ, МКГ/МЛ	22.1±0.8	23.1±1.3 24.7±0.9* 20.0±0.5 17.6±0.7**	23.2±1.1 24.3±1.2 22.1±0.7 18.3±0.5*	23.2±1.1 22.4±1.1 22.9±2.0 19.8±1.0*	22.8±1.1 22.1±0.8 22.0±0.9 23.4±0.3*	23.2±0.7 23.6±0.9 23.9±0.8 24.9±0.8*	23.9±0.8 24.0±0.9 24.9±0.7* 25.2±0.9*	24.7±0.9 25.1±1.2 24.6±1.7 26.7±1.1*	24.5±1.1 25.0±1.3 25.3±1.7 26.9±1.5*
D-Д, МКГ/МЛ	0.18±0.010	0.21±0.010 0.18±0.011 0.17±0.006 0.15±0.003*	0.19±0.013 0.18±0.011 0.20±0.061 0.16±0.011*	0.20±0.011 0.21±0.013 0.19±0.008 0.17±0.009	0.20±0.012 0.21±0.018 0.17±0.006 0.18±0.009	0.19±0.013 0.18±0.014 0.21±0.015 0.24±0.011*	0.21±0.015 0.22±0.013 0.23±0.014 0.25±0.015*	0.21±0.012 0.22±0.011 0.24±0.012 0.25±0.013*	0.22±0.012 0.24±0.011 0.24±0.009 0.27±0.011*
ТкТР, %	100±2.3	96.8±2.3 94.7±2.6 86.0±2.3* 63.2±1.4*	97.4±1.9 97.9±1.4 90.5±1.3 67.19±1.1*	93.2±1. 95.4±1.7 92.6±1.3 73.9±1.4*	97.6±1.7 93.6±1.9 91.3±1.4 91.9±1.4	98.2±1.5 102±2.9 102±1.9 99.8±2.4	102±1.7 106±2.8 108±1.9 101±2.4	101±1.9 106±3.2 111±2.9* 112±3.4*	112±1.8* 119±2.0* 124±2.1* 129±2.6*

Обозначения: как в тексте, знак \* - достоверное отличие от контроля, знак + - от значений в 3-й колонке

В присутствии в рационе аскорбата в количестве, составляющем 25, 50 или 75% от суточной потребности, изменения, которые наблюдались в условиях С-авитаминозного питания, заметно уменьшились уже при наименьшем количестве аскорбата, и ещё заметнее при введении аскорбата в количестве, составляющем 50% от потребности в нём. При количестве аскорбата, составляющем 75% от суточной потребности несколько ниже контроля в конце опыта оказался уровень ф. Р<sub>3</sub>, и несколько выше контрольного - уровень РКМФ. Остальные величины были равны контрольным.

При введении аскорбата в количестве, 2-кратно превышающем потребность, через 8 недель обнаружился прирост уровня фф. Р<sub>3</sub> и Р<sub>4</sub>, ПДФ, РКМФ и D-димеров. При введении аскорбата в количествах 4-, 8- и 16-кратных против потребности, к концу наблюдений (т.е. через 8 недель от начала опытов) также обнаружился рост уровня этих маркеров НВСК в степени, несколько превышающей найденный при 4-кратной дозе. Кроме того, при наибольшей из доз аскорбата найдено повышение ТкТР (на 12-20% против контроля), в то время как

при меньших дозах наблюдалась лишь статистически неподтверждающаяся тенденция увеличения этого показателя.

В табл. 3 представлены схема и результаты опытов, проведенных на аскорбатнезависимых животных (белых крысах), у которых оценивали изменения ЛПО, АОП, НВСК и ТкТРфибринолиза при их содержании на рационе без добавления аскорбиновой кислоты и с её возрастающими количествами.

Здесь видно, что контрольная группа получала полноценный рацион, включавший витамин С в количестве, соответствующем суточной потребности для свинок (рацион для крыс, как отмечено выше, витамина С не содержит и крысы в нём не нуждаются).

Крысы подопытных групп получали по 22,0, 44,0 или 88 мг/кг массы, т.е. 4-, 8- или 16-кратный избыток, с тем, чтобы выяснить, как это влияет на ЛПО, АОП и гемостаз у животных, не нуждающихся в постоянном поступлении витамина С извне.

**Таблица 3.** ЛПО и АОП в тромбоцитах, плазменный уровень маркеров ВТФ, фибринолиз и ТкТР у крыс, получавших аскорбат в дозах, эквивалентных лечебным (верхняя строка - 2, вторая сверху - 4, третья сверху - 6 и четвертая - 8 недель; n = 5 на всех этапах)

Показатели	Крысы получали в составе рациона АК (мг/кг)			
	5.5 (контроль)	22.0	44.0	88.0
ДК, А/мг ЛП	0.051±0.002	0.046±0.005	0.041±0.004*	0.034±0.003*
	0.048±0.003	0.039±0.008*	0.037±0.009*	0.047±0.008
	0.050±0.003	0.035±0.003*	0.055±0.009	0.058±0.009*
	0.052±0.004	0.036±0.007*	0.063±0.007*	0.065±0.006*
ТБК, ед./мг ЛП	0.76±0.03	0.71±0.06	0.68±0.04*	0.61±0.05*
	0.77±0.05	0.65±0.04*	0.67±0.03*	0.82±0.02*
	0.79±0.06	0.62±0.06*	0.74±0.07	0.85±0.06*
	0.78±0.03	0.61±0.05*	0.85±0.07*	0.85±0.09*
ПИ, мин/мл	45.3±1.8	45.9±2.0	52.7±2.0*	52.9±1.2*
	45.7±1.6	54.5±1.8*	54.7±1.6*	40.3±1.1*
	46.4±1.7	54.8±1.8*	42.1±0.7	42.2±0.8*
	45.1±1.6	54.4±1.7*	40.0±1.3*	42.1±1.1*
СО, м <sup>3</sup> /мл/мин	0.77±0.03	0.76±0.04	0.70±0.04*	0.67±0.05*
	0.74±0.04	0.67±0.03*	0.67±0.03*	0.72±0.09
	0.76±0.07	0.66±0.04*	0.79±0.09	0.84±0.06*
	0.77±0.05	0.65±0.06*	0.85±0.04*	0.86±0.07*
Ф. P <sub>3</sub> , %	87.3±1.7	87.9±1.9	81.1±1.2*	80.0±1.1*
	90.2±1.6	79.4±1.8*	89.8±1.8	93.2±1.0*
	89.6±1.8	77.9±1.7*	97.1±1.4*	97.9±1.6*
	87.9±1.8	77.1±1.4*	99.6±1.3*	98.8±1.1*
Ф. P <sub>4</sub> , с	3.3±0.02	3.3±0.02	3.0±0.01*	2.8±0.02*
	3.1±0.02	3.0±0.02*	3.3±0.04	3.4±0.03*
	3.2±0.04	2.9±0.01*	3.9±0.02*	4.0±0.02*
	3.3±0.05	2.7±0.03*	3.9±0.03*	4.1±0.04*
ФГ, г/л	2.1±0.05	2.2±0.09	2.1±0.07	2.0±0.06
	2.0±0.07	2.1±0.08	2.3±0.09	2.2±0.08
	2.2±0.05	2.2±0.08	2.3±0.08	2.5±0.09
	2.3±0.07	2.1±0.06	1.9±0.07*	1.8±0.07*
ПДФ, мг%	15.1±1.0	14.9±1.2	13.4±1.0*	13.0±1.0*
	15.3±1.1	13.7±0.4*	13.9±0.4	14.8±0.4
	14.9±1.2	13.3±0.8*	15.9±0.3*	15.7±0.2*
	14.7±1.5	13.5±0.5*	16.7±0.4*	16.1±0.3*
РКМФ, мкг/мл	23.8±1.3	24.2±1.0	21.1±1.0*	22.6±1.1
	24.0±0.8	22.2±0.7*	22.9±0.9	22.8±0.7
	23.7±1.1	21.7±0.7*	25.6±0.7*	25.9±0.8*
	24.2±0.9	21.2±0.6*	26.5±0.6*	26.4±0.7*
D-Д, мкг/мл	0.20±0.01	0.17±0.01	0.17±0.01*	0.16±0.02*
	0.17±0.04	0.14±0.03*	0.21±0.03	0.20±0.03
	0.18±0.09	0.14±0.01*	0.24±0.02*	0.25±0.04*
	0.18±0.07	0.13±0.02*	0.24±0.03*	0.24±0.05*
ТкТР, %		99.1±3.4	97.0±3.5	96.1±3.3
		102±3.2	113±3.4*	115±3.2*
	100±3.0	120±2.1*	127±2.4*	133±3.1*
		124±3.0*	132±3.1*	137±3.0*

Обозначения: как к таблицам 1 и 2

С увеличением количества аскорбата в 4 раза уже через 2 недели наблюдалось замедление ЛПО и рост АОП (снижение в тромбоцитах уровня ДК, ТБК, удлинение ПИ и замедление СО). То же обнаружилось и через 4 недели от начала опыта. Однако через 6 недель значения всех этих показателей сравнялись с контрольными величинами, т.е. восстановилась исходная интенсивность перекисного окисления липидов, а через 8 недель выявилось достоверное ускорение ЛПО (прирост уровня ДК и

ТБК) и снижение АОП (укорочение ПИ и рост СО).

Введение с рационом 8-кратного количества аскорбата уменьшило (начиная с 4-й недели) уровень ДК и ТБК, замедлило скорость СО и удлинило ПИ, т.е. замедлило процессы ЛПО и повысило АОП. Все эти изменения далее не усиливались: степень убывания липидпероксидов, степень изменения показателей АОП через 6 и 8 недель сохраняли значения, выявлявшиеся через 4 недели. То же относится и к сдвигам толерантности к тромбину, которая

увеличилась в те же сроки и примерно в той же степени, что и при 8-кратной дозе аскорбата.

При количестве аскорбата, превышающем суточную потребность в 16 раз, наблюдались такие же сдвиги, с той разницей, что эффект через 2 недели был выше, а через 4 недели (т.е. быстрее, чем при 8-кратной дозе) произошло выравнивание всех показателей с контрольными величинами. Спустя 8 недель появились такие же по степени признаки ускорения ЛПО и снижения АОП, какие нашли при 8-кратном количестве аскорбата.

### ВЫВОДЫ

1. Исключение витамина С из рациона аскорбатзависимых животных ускоряет липидпероксидацию, повышает коагулоактивность тромбоцитов, интенсифицирует непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, которое затем замедляется при длительном нахождении на С-авитаминозном питании.

2. Витамин С в количествах, не достигающих суточной потребности, ограничивает сдвиги липидпероксидации, двукратный избыток предупреждает их появление, а в количествах, эквивалентных лечебным дозам, в первые недели проявляет антиоксидантный эффект, сменяющийся по мере удлинения длительности введения прооксидантным.

3. У аскорбатнезависимых животных витамин С в малых дозах обнаруживает первоначально антиоксидантный эффект, сменяющийся прооксидантным быстрее, чем это имеет место у аскорбатзависимых животных, а в количествах, эквивалентных лечебным, дозависимо снижает антиоксидантный потенциал и ускоряет липидпероксидацию в тромбоцитах.

4. Изменения в гемостазе у аскорбатзависимых и аскорбатнезависимых животных следуют за сдвигами интенсивности перекисного окисления липидов (при ускорении ЛПО и снижении АОП коагулоактивность тромбоцитов, непрерывное внутрисосудистое свертывание крови интенсифицируются, а толерантность к тромбину падает, при замедлении ЛПО и повышении АОП снижается коагулоактивность тромбоцитов, замедляется НВСК и растет ТкТР).

Полученные данные обосновывают необходимость глубокого изучения дозависимости влияния аскорбата на гемостаз при использовании его в терапии заболеваний, сопровождающихся гемостатическими нарушениями.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев Г.В., Лютоа Л.В. Значение аскорбиновой кислоты в сохранении функции противосвертывающей системы крови // Система свертывания крови и фибринолиз. Киев: Здоровья, 1969. С.8-9
2. Балуда В.П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск: ТГУ, 1980. 310 с.
3. Бокарев И.Н. Дифференциальная диагностика и лечение внутренних болезней. Кровоточивость, или геморрагический синдром. Дифференциальная диагностика. М.: МГУ, 2002. – 75 с.

4. Бышевский А.Ш., Мохнатов В. Метод определения антиплазмина в сыворотке крови // Система свертывания крови и фибринолиза. Киев: Здоровья. 1969. С. 220-221
5. Бышевский А.Ш. Витамины и гемокоагуляция // Свердловск: Средне-Уральское книжное издательство, 1978. 124 с
6. Бышевский А.Ш. Способ определения содержания продуктов деградации фибрина: А.С. № 1659855, 1.03. 1991 г, публикация в Бюлл. № 24, 30.06. 1991
7. Бышевский А.Ш., Кожевников В.Н. Витамины и здоровье женщины. Красноярск: КГУ, 1991. 192 с
8. Бышевский А.Ш. и др. Способ определения толерантности животных к тромбину. Патент РФ № 2219546, 20.12.2003
9. Бышевский А.Ш. и др. Связь гемостаза с перекисным окислением липидов. М.: Медицинская книга, 2003. 95 с
10. Воробьева Н.М. и др. Повышение Д-димера в период лечения антикоагулянтами и рецидивы венозных тромбозов - есть ли связь? // Матер. IV Всероссийской конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». М.: АМН РФ, 2009. С.108-109
11. Гланц С.А. Медикобиологическая статистика. М.: Практика. 1998. 112 с
12. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: ФЭН АНТ, 2000. 367 с
13. Ковалевский К.Л. Содержание мелких лабораторных животных в вивариях. М.: Сельхозгиз, 1949. 135 с
14. Кудряшов Б.А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови // М.: Медицина, 1975. 488 с.
15. Кузник Б.И. и др. Докл. симпозиума «Биологические проблемы Севера». Петрозаводск: Петрозаводский ун-т, 1976. С. 77-79
16. Курцинь О.Я. Инструкция по приготовлению основной диеты для крыс. М.: Институт питания АМН СССР, 1952. 5 с
17. Меньшиков Ф.К. Об эритропоэтической функции костного мозга при экспериментальном авитаминозе С // М.: Сб. новостей НИИП, 1938. С.17-29
18. Мищенко В.П. и др. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и гемостаз. Полтава: АСМИ (Украина), 2005. 159 с
19. Момот А.П. и др. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста. Клини. лабор. диагностика, 1999. № 4. С. 17-20.
20. Орлова О.В. и др. Маркеры тромбообразования и воспаления при остром клеточном, гуморальном и персистирующем отторжении сердечного трансплантата с гемодинамическими нарушениями. Матер. IV Всероссийской конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». М., 2009. С.365-367
21. Савинов Б.Г. Каротин Киев: АН УССР, 1948. 131 с
22. Самаль А.Б. и др. рН среды как фактор регуляции функциональных свойств тромбоцитов // Гематол. и трансфузиол., 1989. Т.34, № 2. С. 35-38.
23. Смирнов М.И. Витамины // М.: Медицина. 1974. 495 с
24. Ушкалова В.Н. Комплексный анализ липидов крови спектрофотометрическим, флуориметрическим и кинетическим методами // Лаб. дело. 1987. № 6. С. 446-460.
25. Шараев П.Н. Витамины и здоровье // Ижевск: «Экспертиза», 2004. 108 с
26. Широков В.Ю. Значение нарушений внутрисосудистого компонента микроциркуляции в патогенезе хронического генерализованного пародонтита у больных с патологией желудочно-кишечного тракта и в динамике лечения: Автореф. дис. ... докт. мед. наук Саратов, 2009. 42

- с
27. Шитикова А.С. Тромбоцитарный гемостаз. Санкт-Петербург, 2000. 222 с
  28. Casanueva E. Possible interplay between vitamin C deficiency and prolactin in pregnant women with premature rupture of membranes: facts and hypothesis // *Med. Hypotheses*, 2005. Vol, 64, № 2. P. 11-13.
  29. Codoñer-Franch P. Mandarin juice improves the antioxidant status of hypercholesterolemic children // *J. Pediatr.Gastroenterol. Nutr.* 2008. Vol. 47, № 3. P.349-355.
  30. Levi M. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology // *Ann. Med.*, 2004. Vol, 36. № 1. P.41-49
  31. Moerloose P. Should neurologists measure D-dimer concentrations? // *Lancet Neurol.* 2003. № 2. P. 77
  32. Shirakawa A.K. 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces CCR10 expression in terminally differentiating human B cells // *J. Immunol.*, 2008. Vol, 180, № 5. P. 2786-2795.
  33. Junghans E. Die Behandlung von gynecologischen Blutungen mit Vitamin C // *Klinisch. Wschr.*, 1935. Vol. 14, № 25. S. 899-911
  34. Jurk K. Platelets: physiology and biochemistry // *Semin. Thromb. Hemost.*, 2005. Vol. 31, № 4. P. 381-392.
  35. Van Guilder G.P. Acute and chronic effects of vitamin C on endothelial fibrinolytic function in overweight and obese adult // *J. Physiol.*, 2008. Vol.15, № 14. P. 3525-3535.
  36. Wada H. Increased plasma solubility fibrinogen in patients with disseminated intravascular coagulation // *Am. J. Hematol.*, 1996. № 51. P. 255-260.

## **LIPIDPEROXIDATION AND HEMOSTATIC AT ASKORBATDEPENDENT ANIMALS IN THEIR UPKEEP DIET WITHOUT ASCORBATE, WITH ITS DEFICIT AND SURPLUS**

© 2009 E.M. Shapovalova

Tyumen State Medical Academy

We consider the differences in the reaction lipidperoxidation and hemostasis in askorbatdependent and askorbatindependent organisms in the absence of a deficit and an excess of vitamin C in the diet. We discuss the significance of these material in the selection of doses of vitamin C in the treatment of diseases occurring phenomena. Hyperoxidation and inclinations to an accelerated thrombinogenesis.

Key words. Ascorbate. Lipidperoxidation. Hemostasis