

---

*На правах рукописи*

**Самойлов Максим Алексеевич**

**ВЛИЯНИЕ ИНАЦИНА НА ВЫЗЫВАЕМЫЕ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ  
КИСЛОТОЙ СДВИГИ КОАГУЛОАКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ,  
НЕПРЕРЫВНОГО ВНУТРИСОСУДИСТОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ  
И ТОЛЕРАНТНОСТИ К ТРОМБИНУ  
(экспериментальное исследование)**

**03.01.04 – биохимия**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

Уфа - 2012



---

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Тюменская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития Российской Федерации

**Научный руководитель**

доктор биологических наук **Шаповалова Елена Михайловна**

**Официальные оппоненты**

профессор кафедры общей гигиены с экологией с курсом гигиенических дисциплин медико-профилактического факультета ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Шакиров Дамир Фаизович**

Заведующий кафедрой биохимии ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Высокогорский Валерий Евгеньевич**

**Ведущая организация**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет» Минздравсоцразвития России

Защита состоится *«22»...11.11.12.....* 2012 г в часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.03 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития Российской Федерации по адресу: г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Автореферат разослан *«22»...11.11.12.....* 2012 года

Ученый секретарь Диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Мирсаева Г.Х.

2012 А  
2126

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
С.-Петербург  
03 2011 акт 486

**Актуальность проблемы.** Анализ публикаций касающихся влияния ниацина и аспирина на гемостаз, позволил выделить следующие основные положения, которые с нашей точки зрения характеризуют эти функционально разные соединения по их отношению к важной системе жизнеобеспечения свертывания крови.

Среди ряда причин, отягощающих распространенные заболевания, нередко приводящие к летальным исходам, ведущее место занимают тромбоэмболические осложнения [Б.И.Кузник и др., 1979; З.С.Баркаган, 1988; И.Н.Бокарев, 2002; D.Feng e. a., 2000; M.R. Lassen e.a., 2010; S.M. Schellong e.a., 2010]. Ускоренный тромбогенез или снижение толерантности к тромбину (ТкТР) – непереносимое условие реализации тромбоэмболий [Д.М.Зубаиров, 1976; К.М.Лакини др., 1981; А.Ш.Бышевский и др., 1990; В.П.Балуда и др.,1995; Б.И.Кузник и др., 2010; Н.М.Spronk e.a., 2003; К. Talbot e.a., 2010; R.Cardigan e.a., 2011].

Доказано, что ТкТР зависит от важной биохимической составляющей гемостаза уровня антитромбинов и ингибиторов самосборки фибрина [А.Ш.Бышевский и др., 1987, 1990; Д.М.Зубаиров, 2000], от состояния тромбоцитов, являющихся одним из инициаторов свертывания и участником образования первичного тромба [А.Д.Макацария, 1997; И.А.Демснтьева, 1998; С.А.Шитикова, 2000; М.К.Умутбаева, 2004; Р.Г.Алборов, 2006; А.Ш.Бышевский и др., 2005; L.Green e.a., 2010].

Убедительно показано, что интенсивность непрерывного внутрисосудистого свертывания крови (НВСК), отражающая степень напряженности в гемостазе зависит от уровня в крови продуктов взаимодействия тромбин-фибриноген [Д.М.Зубаиров и др., 1989; А.Ш.Бышевский и др., 2003, 2006; И.Н.Бокарев, 2000, 2002; R.F.A.Zwaal, 1982; R.F.A.Zwaal e.a., 1992; M. Shara e.a., 2007; R.Cardigan e.a., 2011], и что сдвиги уровня этих продуктов определяют вероятность развития гипер- или гипокоагуляции [А.П.Момот, 1990; Т.А.Батрак, 1999; И.Н.Бокарев, 2000, 2002; М.К.Умутбаева, 2003, 2005; S.Lison e.a., 2011].

Существует зависимость между коагуляционной активностью тромбоцитов и скоростью липидперекисидации (ЛПО), что указывает на возможность изменять состояние гемостаза в организме дополнительным введением антиоксидантов [С.Л.Галян и др., 1997; Е.А.Бунакова и др., 1998; В.Engelmann e.a., 2010; S. Ji. e.a., 2011]. Показано, что витамины-антиоксиданты, назначаемые в дозах, превышающих потребность, сдерживают активацию тромбоцитов и тормозят НВСК при гипертромбинемии и увеличивают ТкТР [П.Я.Шаповалов и др. 1999; А.Sh.Bishevsky e.a., 2008, 2009; S.K. Dasea., 2010].

Установлено, что эффекты соединений, уменьшающих способность тромбоцитов к агрегации, при одновременном введении с антиоксидантами усиливаются. Следовательно, можно ожидать, что совместное применение антиагрегантов с антиоксидантами выявит как минимум, суммацию эффектов, позволяющую уменьшать дозу антиагрегантов.

Многие из антиагрегантов обладают заметными побочными эффектами [M.Camacho, L Vila, 2000; A.Ciccione e.a., 2000; P.G. Steg e.a., 2010; R. Gao, X.Li, 2010]. Показано, что из антиагрегантов ацетилсалициловая кислота (АСК) чаще

других используют в лечении заболеваний с склонностью к тромбофилии или кровоточивости [Е.Л.Насонов и О.В.Лебедева, 1996; П.П. Филиппов, 1998; M.Homolcik e.a., 2000; C.Patrono, B.Rocca, 2008; Ruiz-G. Irastorza e.a., 2010; S.Mallonee e.a., 2010; S.R.Mehtaea., 2010]. АСК по длительности и широте использования занимает в медицинской практике первое место среди лекарственных препаратов этого типа [J.W.Suh e.a., 2011].

В совокупности эти сведения определили цель предпринятого нами исследования, и обусловили выбор объектов и алгоритм действий для её достижения.

**Цель исследования.** Установить характер и механизм влияния ниацина и ацетилсалициловой кислоты, вводимых порознь и совместно, на коагулоактивность тромбоцитов, непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, фибринолиз и толерантность к тромбину.

#### **Задачи исследования**

1. Охарактеризовать у крыс-самцов, получающих сбалансированный по нутриентам рацион питания, эффекты АСК на общую коагуляционную активность тромбоцитов, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови (НВСК) и толерантность к тромбину (ТкТР).
2. Изучить те же показатели при отсутствии ниацина в рационе и при его избытке в количествах, адекватных лечебным дозам.
3. Выявить, как влияет АСК в дозе  $DI_{50}$  при избытке ниацина на коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и реакции высвобождения, на НВСК, на ТкТР и фибринолиз.
4. Установить, как влияет АСК в дозе  $DI_{50}$  при избытке ниацина на те же свойства тромбоцитов, на НВСК, на ТкТР и фибринолиз у животных, подвергшихся воздействию, инициирующим гипертромбинемию.
5. Изучить выживаемость животных при внутривенном введении тромбина в дозе  $DL_{50}$  при предварительном введении ниацина и АСК порознь и совместно.
6. Провести анализ корреляции между сдвигами коагуляционной активности тромбоцитов, их способности к агрегации и к реакции высвобождения, с одной стороны, и с ТкТР и фибринолитической активностью с другой.

**Научная новизна.** Впервые показано, что однократное введение АСК в дозе  $DI_{50}$  с рационом снижает общую коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и высвобождению фф.  $P_3$  и  $P_4$ , что сопровождается замедлением непрерывного внутрисосудистого свертывания крови и повышением реакции на гипертромбинемию, т.е. повышает толерантность к тромбину. Впервые установлено, что избыточное введение с рационом ниацина в количествах, превышающих в 4, 8 и 16 раз суточную потребность (т.е. в дозах, адекватных лечебным), повышает коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и высвобождению фф.  $P_3$  и  $P_4$ , но, ускоряя одновременно фибринолиз, повышает толерантность к тромбину. Показано, что при обогащении рациона ниацином в дозах, адекватных лечебным, эффекты АСК на фибринолиз и ТкТР частично суммируются и это позволяет снижать дозы АСК при его применении как антиагреганта. Впервые показано, что частота выживания при внутривенном введении тромбина в дозе  $DL_{50}$ , повышается,

если животным предварительно введен АСК или они получали избыток ниацина; эффект ещё более выражен при введении аспирина на фоне избытка ниацина.

**Практическая значимость.** Полученные результаты позволяют рекомендовать при заболеваниях, протекающих с наклонностью к тромбофилии, обусловленной основным заболеванием, использовать АСК, предварительно обогащая организм ниацином (например, при заболеваниях сердечно-сосудистой системы, атеросклеротических изменениях и их осложнениях); желательно контролировать у таких больных степень В<sub>3</sub>-витаминной обеспеченности организма.

Наличие тесной положительной ассоциации между уровнем всех изучавшихся нами маркеров НВСК (ПДФ, РКМФ и D-димерами), одинаковая динамика сдвигов их плазменного уровня при воздействиях, изменяющих интенсивность НВСК, позволяют при отсутствии условий для определения всех перечисленных маркеров контролировать уровень одного из них, а именно D-димеров.

**Основные положения, вынесенные на защиту:**

1. АСК, одним из оснований использовать который в практике, являются его антиагрегантные свойства, угнетает агрегацию тромбоцитов, реакцию высвобождения прокоагулянтов (ф.Р<sub>3</sub> и Р<sub>4</sub>) и активирует фибринолиз в зуглобулиновой фракции плазмы, замедляя в связи с этим непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и повышая толерантность к тромбину.
2. Ниацин в дозах, превосходящих суточную потребность в 4, 8 и 16 раз, повышает коагулоактивность тромбоцитов, усиливая их способность к агрегации и к высвобождению прокоагулянтов, что ведет к ускорению непрерывного внутрисосудистого свертывания крови, однако, активирующийся одновременно фибринолиз обуславливает рост толерантности к тромбину.
3. Введение АСК животным, рацион которых в течение десяти дней содержал ниацин в дозах, превосходящих суточную потребность в 4, 8 или 16 раз, ограничивает активацию тромбоцитов, активирует фибринолиз, что ведет к существенному повышению толерантности к тромбину, благодаря неполной суммации эффектов ниацина и антиагреганта.
4. Общая коагуляционная тромбоцитов, их спонтанная и АДФ-индуцируемая агрегация, реакция высвобождения, уровень ПДФ, РКМФ и D-димеров сходно изменяются во времени и в зависимости от дозы АСК или ниацина (различия между углами наклона трендов к оси категорий недостоверна -  $p > 0,05$ ), а сдвиги тесно положительно ассоциированы между собой ( $r$ , колеблется в пределах 0,7-0,9); сдвиги ТкТР и скорости фибринолиза положительно ассоциированы между собой, и отрицательно ассоциированы с показателями коагулоактивности тромбоцитов и непрерывного внутрисосудистого свертывания (во всех сочетаниях по два коэффициента  $r$ , варьирует от -0,7 до -0,9).

**Внедрение в практику.** Совместно с кафедрой биологической химии Челябинской ГМА, с сотрудниками кафедр биологической химии, гигиены с основами экологии ТюмГМА разработаны и внедрены для обучения студентов и для использования в лечебных учреждениях г. Тюмени (ГЛПУ ТО ОКБ № 1) и области (ГЛПУ ТО ОКБ №11 р.п. Голышманово) методические рекомендации, оформленные акта-

ми: «Влияние ингибиторов превращений арахидоновой кислоты на агрегацию и реакцию высвобождения тромбоцитов, на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и толерантность к тромбину».

Результаты, полученные при выполнении работы, используются в обучении студентов по курсам «Гигиена с основами экологии» и «Биохимия» ГБОУ ВПО ТГМА Минздравсоцразвития России.

**Апробация.** Основные положения диссертации доложены на научных конференциях региональных отделений Российской академии естествознания (Тюмень, 2009, 2011) и Всероссийского общества биохимиков и молекулярных биологов (Тюмень, 2011), на III международной научной конференции в Варадеро (Куба, март, 2008), на III Международной научно-практической конференции «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2010), на Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине «Медицинская биохимия и клиническая лабораторная диагностика в аспекте модернизации системы научных исследований» (Омск, 2011) на совместном заседании кафедр биохимии, гигиены с основами экологии, фармакогнозии, технологии лекарств с курсом ботаники, аналитической и органической химии с курсом токсикологии (Тюмень, 2012)

**Личное участие автора.** Проведение экспериментов, обработка и интерпретация экспериментальных данных, а также подготовка к публикации основных результатов исследования по диссертационной работе и их апробация выполнялись лично автором или при его непосредственном участии.

**Связь с планами научно-исследовательских работ.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО ТГМА Минздравсоцразвития России. Номер государственной регистрации 01.201031732.

**Объем и структура работы.** Диссертация, изложена на 120 страницах машинописного текста, содержатся 14 рисунков и 10 таблиц, состоит из введения, обзора литературы (144 российских и 142 зарубежных источников), главы, содержащей 5 подразделов, где изложены результаты собственных исследований, заключение и выводы.

#### **Дизайн исследования**

**Изучить влияние ниацина и аспирина (порознь и совместно) на коагуляционную активность тромбоцитов, НВСК, фибринолиз и ТкГР:**

1. Охарактеризовать у крыс, получающих сбалансированный рацион, эффекты АСК на ОКАТ, способность тромбоцитов к агрегации и к реакции высвобождения, на НВСК и ТкГР.
2. Изучить те же показатели в отсутствии ниацина в рационе и его избытке в количествах, адекватных лечебным дозам.
3. Выявить влияние  $DI_{50}$  АСК при избытке ниацина в рационе на активность тромбоцитов, их способность к агрегации и реакции высвобождения, на НВСК, ТкГР и

фибринолиз.

4. То же, что в п. 3, у крыс при воздействиях, инициирующих гипертромбинемию.
5. Изучить зависимость частоты выживания животных при внутривенном введении  $DL_{50}$  тромбина от введения ниацина и АСК порознь и совместно.
6. Установить типы ассоциации между сдвигами коагулоактивности тромбоцитов, их способности к агрегации и к реакции высвобождения с одной стороны, ТкТР и фибринолитической активностью с другой.

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на беспородных белых крысах-самцах (364 особи,  $148 \pm 14$  г). Кровь для исследований брали из яремной вены у крыс, наркотизированных диэтиловым эфиром, следуя правилам гемостазиологии [В.П.Балуда и др., 1980]. В пробах крови определяли: общую коагуляционную активность тромбоцитов (ОКАТ) согласно описанию А.Ш.Бышевского и др., (1996); агрегационную способность тромбоцитов - на агрегометре "Биомак" (АДФ-индуцируемую агрегацию в конечной концентрации 0,01 АДФ мг/мл); спонтанную агрегацию (СА) определяли по описанию [В.П.Балуда и др., 1980]; реакцию высвобождения тромбоцитов по уровню в плазме фф.  $P_3$  и  $P_4$  [В.П.Балуда и др. 1980]; продукты деградации фибрина (ПДФ) маркеры НВСК [Т.А.Рудницкая, 2003; H.Wada e.a., 2003] по описанию [А.Ш.Бышевский и др., 1991]; уровень растворимых комплексов мономерного фибрина (РКМФ) - маркер НВСК [В.Ю.Широков, 2009; H.Wadae.a., 2003] фенантролиновым тестом; уровень D-димеров маркер НВСК [Е.Г.Соболева и др. 2003; Н.М.Воробьева и др., 2009; de Moerloose, e.a, 2003]) устанавливали с помощью набора «D-dimer test» (Roche) [А.Л.Момот и др., 1999]; толерантность к тромбину по описанию к патенту [А.Ш.Бышевский, 2003].

Тромбин вводили в обнаженную яремную вену (1,0 мл/кг, активность по времени свертывания 0,2% раствора фибриногена равнялась 17 с в опытах по оценке частоты выживания крыс, или 25 с - в опытах по оценке ТкТР).

Димефосфон, уксуснокислый свинец и аспирин крысам вводили с утренней порцией рациона, равномерно распределяя в ней добавки: крысы натошак получали  $\frac{1}{2}$  суточной порции рациона с добавками, а спустя 1 ч вносили в кормушку остальную часть суточной порции рациона.

Крыс сдержали на сбалансированном пищевом рационе, разработанном институтом питания АМН СССР [О.Я.Курцинь, 1952], содержащем белок, углеводы, липиды, солевую смесь и набор витаминов [Б.А.Лавров, Е.Л.Терентьева, 1963]. Витамины и витаминороды вводили так, чтобы суточная порция рациона содержала их количество, равное суточной потребности крыс [Б.А.Лавров, Е.Л.Терентьева, 1963; P.W.Hawk, B.L.Ozer, 1954]. В кормушки готовую смесь вносили в количестве, равном её потреблению - 100 г/кг массы тела [О.Я.Курцинь, 1952].

**Статистическая обработка полученных результатов.** Статобработку полученных данных выполняли с помощью медико-биологической программы Biostat 4.03 [С.А.Гланц, 1998], используя вариационную статистику для малых рядов на-

блюдений с вычислением ( $M$ ,  $m$ ,  $\sigma$ , и  $p$ , 2); интенсивные показатели анализировали приемом альтернативного варьирования, рассчитывая те же показатели; 3) различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ ; 4) связи переменных устанавливали ранговой корреляцией по Спирмену; 4) графический анализ выполняли в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 2003);

5) корректность аппроксимации оценивали коэффициентами  $R^2$ . 6) анализируя совместный эффект двух факторов, различали тип кооперации [М.Диксон и др., 1966], используя уравнение в котором соединять левую и правую части может знак =, < или >:

I.  $i_{1,2} = (i_1 + i_2) - (i_1 \times i_2)$ ; II.  $i_{1,2} < (i_1 + i_2) - (i_1 \times i_2)$ ; III.  $i_{1,2} > (i_1 + i_2) - (i_1 \times i_2)$ ,

где  $i_1$  парциальный эффект одного,  $i_2$  - второго,  $i_{1,2}$  - одновременно обоих факторов. Значение  $i$  устанавливали, деля показатель, отражающий эффект в опыте, на тот же показатель в контроле, и вычитая частное из единицы. Результат, соответствующий уравнению I - суммация, уравнению II - антагонизм и III синергизм.

В работе использовали: бычий тромбин и фибриноген («Технология-стандарт»), набор «D-dimer test» («Roche»), ацетат свинца х.ч., ацетилсалициловая кислота (Chinoip), димефосфон (Казань),  $CaCl_2$  х.ч., буфер Михаэлиса («Технология-стандарт»), цианокобаламин ампульный – 200 мкг/мл («УфаВИТ»), токоферола ацетат (Slovakofarma J.S.C.), витамин С (Немофарм D.D.), ниацин (ЗАО «Уфа-ВИТ»), казеин и крахмал маисовый, солевая смесь Осборна-Менделя (реагенты категории х.ч.).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Начали исследование с оценки у крыс общей коагуляционной активности (КА) тромбоцитов, их способности к спонтанной и АДФ-агрегации, к реакции высвобождения, интенсивности НВСК при содержании животных на сбалансированном рационе питания до и после введения аспирина в  $DI_{50\%}$  (150 мг/кг - величина, установленная ранее [И.А.Дементьева, 1998; И.Р.Ральченко, 1998; Р.Г.Алборов, 2006]). Подтвердилось, что эта доза АСК снижает в наших экспериментах максимальную АДФ-агрегацию с  $57,2 \pm 5,3$  до  $28,1 \pm 3,5$  - на 50,9% при  $p < 0,02$ . Одновременно снижаются и все другие величины, характеризующие КА тромбоцитов, скорость НВСК. ТкТР же при этом растет.

Изучив затем эффекты возрастающих доз АСК (рис. 1), мы нашли следующее: ОКАТ, способность тромбоцитов к агрегации (СА, МА и  $tg\alpha$ ), к высвобождению фф.  $P_2$  и  $P_4$  снижается, падает уровень маркеров НВСК и растет ТкТР с увеличением 500 и 600 мг/кг не сопровождается достоверным изменением степени сдвигов. Об этом свидетельствует то, что углы наклона трендов с увеличением дозы от 150 до 400 мг/кг лежат в пределах от  $42$  до  $48^\circ$ , а разницы между углами наклона каждого показателя недостоверны (для всех сравниваемых пар  $> 0,05$ ). Особенно сходна динамика маркеров НВСК ПДФ, РКМФ и D-димеров.



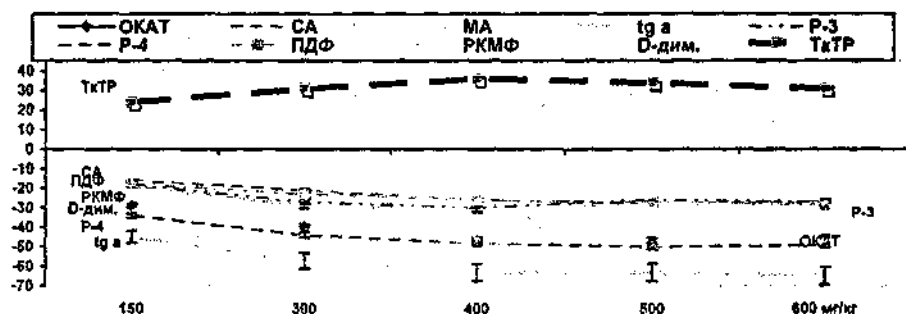


Рисунок 1. Изменения (в % от контроля) коагуляционной активности тромбоцитов, интенсивности НВСК и ТкТР через 24 ч после введения увеличивающихся доз АСК

Ошибки средней арифметической ( $m$ ) и среднеквадратическое отклонение ( $\sigma$ ) показателей уровня D-димеров оказались ниже, чем у других маркеров НВСК и это позволило в следующих экспериментах судить об интенсивности НВСК, ориентируясь на сдвиги уровня D-димеров. Важно, что и другие исследователи считают возможным по этому показателю судить о скорости НВСК [И.Н.Бокарев, 2002; А.В.Багумян и др. 2007; В.А.Полякова и др., 2008; De P.Moerloose, F. Boehlen, 2003; A.Sh.Bishevsky e.a., 2008; F.A.Andersonea., 2010].

Данные о зависимости степени сдвигов от интервала после введения АСК, показали, что её эффект ослабляется с увеличением времени между введением и отбором проб крови. Дозазависимость при этом сохранялась в интервалах от 150 до 400 мг/кг при отборе проб (через 48 ч), и от 150 до 300 мг/кг (через 72 ч). Это позволяет считать, что заметное повышение дозы АСК мало изменяют степень его влияния на активность тромбоцитов и на ТкТР через 48 и особенно через 72 ч после введения.

Эффекты ниацина и его отсутствия представлены в табл. 1 в виде сдвигов в % от контроля, что облегчает графический анализ. Заметнее влияет на степень сдвигов ОКАТ и ТкТР прирост дозы АСК от 150 до 400 мг/кг в промежутке между 24 и 48 часами после его введения.

Степень сдвигов АДФ-агрегации (МА) и  $tg\ \alpha$  близки не только и при разных АСК, но и в разные сроки после введения, и это позволило нам ограничиться далее определением из двух показателей только величины МА, тем более что, в новых публикациях, мы нашли близкие по степени сдвиги МА и  $tg\ \alpha$  и в других экспериментальных и клинических ситуациях [С.Л.Галян и др., 1997; Е.М.Шаловалова, 2010; R.Beigel e.a., 2011; D.C.Davidson e.a., 2011].

Видимо, и заметное повышение дозы при введении с рационом АСК мало изменяет его влияние на КА тромбоцитов, на НВСК спустя 48 и 72 ч. Поэтому далее мы отказались от оценки  $tg\ \alpha$ , ПДФ и РКМФ.

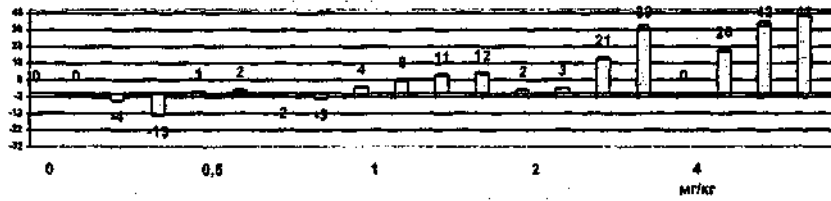
Таблица 1- Степень сдвигов (представлена в % от контроля) коагуляционной активности тромбоцитов, плазменный уровень D-димеров и ТкГР у крыс при В-авитаминозном питании и крыс, получавших никотиновую кислоту в дозах, превышающих суточную потребность

Тесты	Контроль (0.25мг/кг) (n = 10)	Крысы (n = 5 в каждой группе) получали НК (мг/кг массы тела) из расчета:				
		0.0	0.5	1.0	2.0	4.0
ОКАТ, %	91,2	00	-1,1	3,8	2,2	0,0
		00	2,2	8,2	3,5+	25,3**
		-4,3*	-2,5	10,9*	21,0**+	41,7**+
		-13*	-3,2	12,3**+	39,5**+	48,2**+
СА, %	8,5±0,5	-2,3	2,3	-1,2	3,5	7,0
		-4,6	4,7	-3,5	7,0*	13,8**+
		-4,7*	-4,7	12,0*	9,9**+	13,8**+
		-10,5*	-2,3	16,0*	16,1**+	47,3**+
МА, %	56,9±5,1	-3,1	-7,0	7,5	4,0	5,7
		-17,5	-1,7	-3,5	5,3**+	10,5**+
		-22,8*	-3,7	15,7*	7,0**+	19,7**+
		-29,8*	-0,9	19,3*	14,1**+	35,1**+
ф. P <sub>3</sub> , %	90,2±1,4	-1,6	-2,2	0,0	0,0	7,7**+
		-7,7	-1,8	0,0	2,2+	8,9**+
		-7,8*	-4,4	5,5+	7,3**+	22,0**+
		-11,1*	-4,1	14,2**+	10,5**+	20,5**+
ф. P <sub>4</sub> , с	3,5±0,04	-2,7	-2,8	0,0	3,1	14,5+
		0,0	2,7	0,6	11,4**+	20,2**+
		-2,9	2,8	22,8**+	25,7**+	28,6**+
		-22,8*	8,5	31,4**+	60,0**+	77,1**+
D-д, мкг/мл	0,20±0,010	-5,0	0,8	0,0	10,0	8,5
		5,0	0,9	0,2	15,0+	20,2**+
		-10*	0,03	0,3	25,0**+	30,0**+
		-30*	0,08	30,0**+	26,0**+	40,0**+
ТкГР, %	100±3,4	-3,2	2,0	-3,1	4,0	5,0
		-1,5	0,0	3,0	5,0	4,0
		-8,8*	3,0	11,1**+	9,0**+	27,0**+
		-11,0*	-1,1	25,0**+	34,0**+	46,0**+

Обозначения: знак \* - достоверное отличие от соответствующего срока во 2-й колонке; знак + - то же относительно 3-й колонки; строки в столбцах сверху вниз - 1-й, 2-й, 5-й и 15-й дни от начала опытов.

На диаграммах рис. 2 А, Б и В видно, что ОКАТ, СА и АДФ-агрегация (МА) сильно ослаблены в отсутствии ниацина. Степень сдвигов растет с удлинением наблюдений. При добавлении в рацион ниацина в избытке, превышающем потребность в 2 или в 4 раза (0,5 или 1,0 мг/кг), изменений нет или они незначительны.

А (динамика ОКАТ) ↓



Б (динамика СА) ↓



В (динамика максимальной АДФ-агрегации) ↓

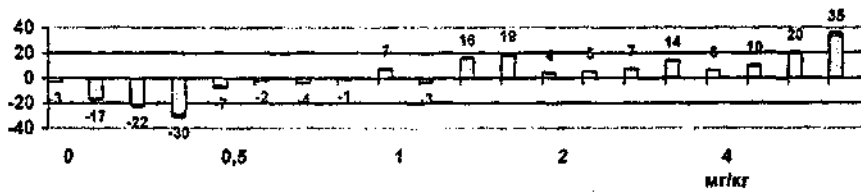


Рисунок 2. Изменения ОКАТ (рис. 2А), спонтанной агрегации (рис. 2Б) и АДФ-агрегации МА (рис. 2В) в отсутствии инацина и его избытке. При 8-микратном и особенно 16-тикратном избытке инацина (2,0 и 4,0 мг/кг) растет ОКАТ, ускоряется спонтанная и АДФ-индуцируемая агрегация. Таковы же сдвиги уровня фф. P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> и D-димеров (рис. 3): снижение в отсутствии инацина, нормализация при его наличии в дозе, 2-кратной против потребности. При избытке инацина в 8 и 16 раз против потребности уровень D-димеров ещё выше.

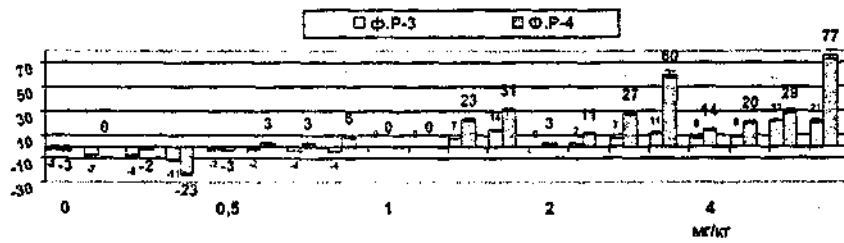


Рисунок 3. Изменения уровня фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub> в отсутствии инацина и его избытке

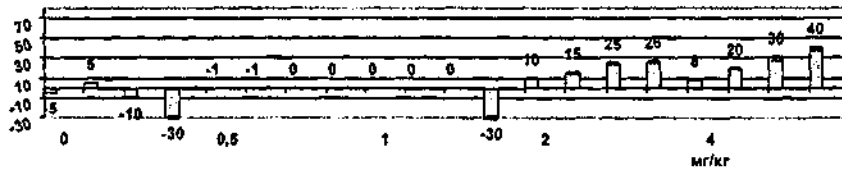


Рисунок 4. Изменения уровня D-димеров в отсутствии ниацина и его избытке. Диаграммы рис. 5, свидетельствуют, что у крыс, не получавших ниацина, ТкТР, ОКАТ и скорость НВСК снизились к 5-му и особенно к 15-у дням наблюдений.

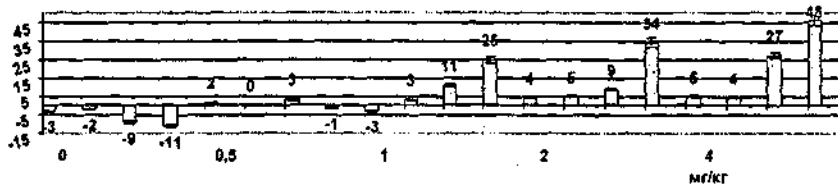


Рисунок 5. Изменения ТкТР в отсутствии ниацина и при его избытке

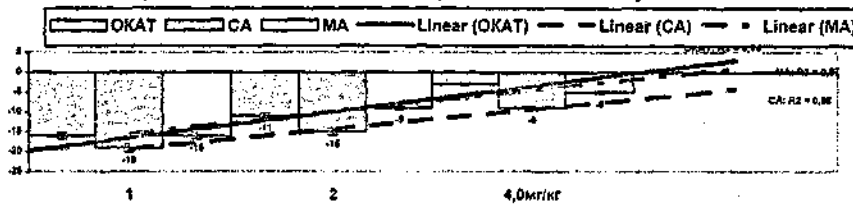


Рисунок 6. Ограничение сдвигов ОКАТ, СА и МА АСК, введенным на 15-й день ежедневного потребления избытка НК (дозы - на оси категорий, снижение степени сдвигов в % относительно контрольных крыс).

Такова же динамика влияния АСК на СА (снижение с 19 до 9%) и на АДФ-агрегацию (с 16 до 5%). Спад эффекта АСК зависит от дозы линейно: тренды, аппроксимирующие зависимость эффекта от дозы АСК, линейны, а коэффициенты  $R^2$  для ОКАТ, СА и МА предельно близки к единице (всегда не ниже 0,92).

На рис. 7 видно, что влияние АСК на выход фф.  $P_3$  и  $P_4$  ослаблено у крыс, получавших ниацин, и степень ограничения этой способности тромбоцитов линейно зависит от дозы АСК (как и в опытах с определением ОКАТ и показателей агрегационных свойств тромбоцитов, коэффициенты  $R^2$  трендов близки к единице).

Диаграммы рис. 8 свидетельствуют, что влияние АСК и на плазменный уровень D-димеров линейно ослабляется с увеличением дозы предварительно вводившейся никотиновой кислоты. Здесь же отражено увеличение ТкТР, наблюдающееся после введения АСК. Причем степень прироста ТкТР линейно зависит от уровня предварительного обогащения рациона животных никотиновой кислотой (коэффициент аппроксимации соответствующего тренда равен единице).

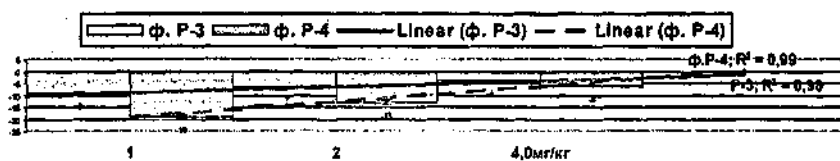


Рисунок 7. Ограничение сдвигов уровня фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>, вызываемых аспирином, введенным на 15-й день ежедневного избыточного включения в рацион НК (дозы НК на оси категорий, степень сдвигов указана в процентах относительно крыс, получавших НК в соответствии с потребностью).

Здесь же (рис. 8) видно, что введение АСК ускоряет фибринолиз и что прирост его скорости линейно пропорционален дозам ниацина ( $R^2$  тренда равно 0,89).

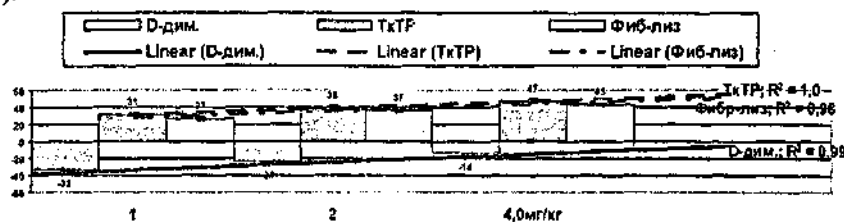


Рисунок 8. Ограничение (в % относительно крыс, получавших НК в дозах, равных потребности) сдвигов уровня D-димеров, ТкТр и фибринолиза, вызываемых АСК, введенным на 15-й день избыточного потребления ниацина (дозы - на оси категорий).

Данные рисунков 6-8, будучи сопоставлены с данными рисунков 3-5, позволяют считать, что ниацин в дозах, адекватных лечебным, повышает ОКАТ, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, интенсифицирует НВСК и одновременно ускоряет ф. XIIa-зависимый фибринолиз, и что это сопровождается повышением ТкТр.

АСК в дозе  $DI_{50}$  снижает ОКАТ, способность тромбоцитов к агрегации, к реакции высвобождения и замедляет НВСК. При введении АСК на фоне избытка в рационе ниацина, его эффекты витамина (активация тромбоцитов) сглаживаются, а способность ускорять фибринолиз и повышать ТкТр, напротив, возрастает.

При оценке корреляции между сдвигами изучавшихся величин, нашли, что изменения каждого из показателей КА тромбоцитов (ОКАТ, СА, МА, фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>), показателей НВСК (уровень ПДФ, РКМФ и D-димеров) при введении разных доз АСК или ниацина порознь и одновременно, а также их динамика во времени положительно ассоциированы при всех возможных сочетаниях по два (значения  $r$ , колеблются в пределах от 0,7 до 0,9). Сдвиги ТкТр и скорости фибринолиза также положительно ассоциированы между собой, но находятся в отрицательной корреляционной связи с показателями ОКАТ, показателями способности к агрегации и с показателями, характеризующими НВСК: во всех анализируемых сочетаниях по два значения  $r$ , варьируют от -0,7 до -0,9. Отметим, что аналогичные ассоциации между показателями коагулоактивности тромбоцитов, ТкТр и фибринолизом находили и ранее при нагрузке организма животных про- или антиоксидантами, про-

коагулянтами и при других воздействиях [А.В.Багумян и др., 2007; Р.Г.Алборов и др., 2009; С.М.Chesney e.a., 2000]. Важно, что АСК на фоне избытка ниацина ослабляет его активирующее влияние на КА тромбоцитов, а, ускоряя ф.ХПа-зависимый фибринолиз, усиливает способность ниацина повышать ТкТР. Это явление мы уточняли экспериментально, изучая влияние избытка ниацина на эффекты АСК у крыс с предварительно провоцируемой гипертромбинемией.

Опытами, где моделью гипертромбинемии служил травматический токсемикоз, вызываемый удалением лигатуры, сдавливающей в течение 4 ч сосуды задней конечности, установлено, что через 1 ч после удаления лигатуры у контрольных крыс (рис. 9) развилась консумпционная гипофибриногенемия, т.е. ускорился тромбогенез повысилась КА тромбоцитов, ускоряющих формирование активной протромбиназы по внутреннему и внешнему путям, следовательно и реакции ф.П → ф. На [З.С.Баркаган, 1988; А.С.Шитикова, 2000; Л.П.Папаян, 2003; В.Н. Gray, R.Miller e.a., 2009; В.Engelmann e.a., 2010].

На рис. 9 виден прирост ОКАТ, способности тромбоцитов к агрегации, к высвобождению фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>. Одновременно снижается ТкТР и растет фибринолиз, ускорение которого - ответ на ускоренную фибринацию, что и ранее находили в сходных ситуациях [Б.И.Кузник, В.П.Скипетров, 1974; Б.А. Кудряшов, 1975]. У крыс группы 2 видно, что избыток ниацина увеличил сдвиги всех оцениваемых величин значительнее, чем на фоне провоцируемой гипертромбинемии у крыс без избытка ниацина. Следовательно, эффект избытка ниацина в рационе усиливает влияние гипертромбинемии на тромбоцитарный компонент гемостаза и ассоциированное с ним НВСК. Вместе с тем, ТкТР повысилась, вероятнее всего за счет свойства ниацина ускорять фибринолиз его активность у этих крыс возросла с 37% до 47%, т.е. ~ в 1,4 раза. У группы 3-й (гипертромбинемия, избыток ниацина и введение АСК), активация тромбоцитов ниже, чем в группах 1-й и 2-й, активность фибринолиза выше, а снижение ТкТР ограничено. Характер сдвигов согласуется с данными об однонаправленности эффектов ниацина и АСК на ТкТР, что связано с активацией фибринолиза.

Возможно, АСК влияет на плазмин через активаторы плазминогена ингибиторы активации плазминогена в эуглобулиновой фракции плазмы отсутствуют [Б.И. Кузник, 2010].

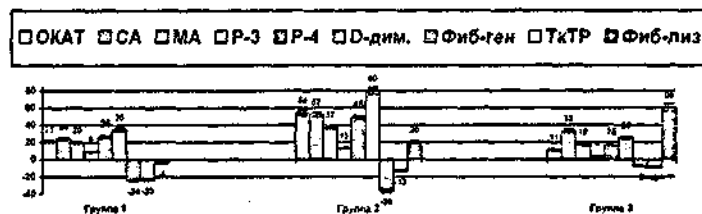


Рисунок 9. Изменения (в % от контроля группы 1-й) изучавшихся тестов у крыс, получивших АСК за 24 ч до провокации гипертромбинемии, влияние на степень сдвигов 4-кратного избытка НК (по 1,000 мг/кг в течение 10 дней). Группа 1 - гипертромбинемия без избытка НК; группа 2 - избыток НК без гипертромбинемии; группа 3 гипертромбинемия на фоне избытка НК и введен АСК

Таким образом, гипертромбинемия на фоне ежедневного введения 4-кратной дозы НК, хотя и ведет к более выраженному потреблению фибриногена, снижает ТкТР в меньшей мере благодаря свойству ниацина ускорять фибринолиз. АСК на фоне избытка ниацина ограничивает снижение ТкТР, вызванное гипертромбинемией, в меньшей мере, чем без избытка НК - это, видимо, результат частичной суммации эффектов НК и АСК на фибринолиз.

В опытах с гипертромбинемией, спровоцированной повторной кровопотерей, ускоряющей тромбиногенез за счет усиленного образования активной протромбиназы [В.Г.Соловьев, 1997; И.А.Дементьева, 1998; Д.М.Зубаиров, 2000], получены такие же результаты: развились гипофибриногенемия потребления, активации тромбоцитов, ускорение НВСК, снижение ТкТР и активация фибринолиза. Такими же были сдвиги при кровопотере на фоне избытка ниацина, а также при введении АСК на фоне избытка ниацина. Графически результаты этого эксперимента идентичны показанным на рис. 9 (отличия лишь в степени сдвигов).

Оба приема провокации эндогенной гипертромбинемией выявили, что влияние ниацина и АСК на активность тромбоцитов и НВСК, на фибринолиз при ускоренном тромбиногенезе более выражены, чем у здоровых животных.

Учитывая сходство механизмов развития гипертромбинемии в этих ситуациях, мы использовали ещё отличающийся по механизму действия инициатор активации тромбоцитов введение прооксиданта свинца, который повышает коагулоактивность тромбоцитов и, следовательно, ускоряет НВСК [С.Л.Галан и др., 1997; Е.М.Шаповалова, 2010; М.Вilgi e.a., 2010]. Схема опыта была такой же, как и в рассмотренных выше экспериментах. Использована доза ацетата свинца (50 мг/кг), которая при ежедневном введении (10 - 12 дней) не нарушает порфиринового обмена, но повышает уровень липидпероксидов в тромбоцитах, что сопровождается ускорением агрегации и реакции высвобождения тромбоцитов [А.А.Мкртумян, 1994; Д.С.Марченко, 1998; И.А.Дементьева, 1998; И.В.Ральченко, 1998]. Результаты эксперимента (рис. 10) указывают на принципиальное сходство характера диаграмм с таковыми на рис. 9.

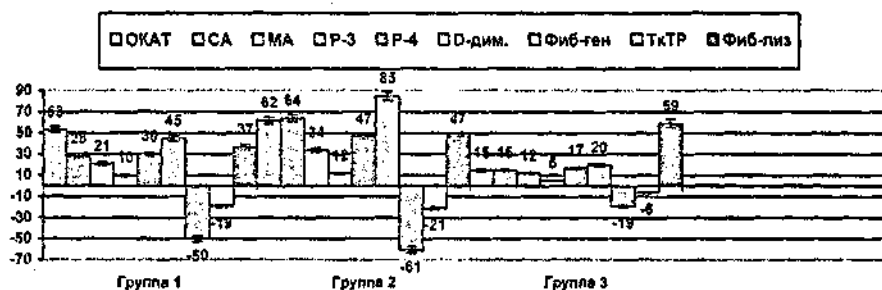


Рисунок 10. Изменения (в % от контроля) изучавшихся тестов у крыс, получивших ацетат свинца в течение 10 сут: группа 1 – свинец вводили на фоне сбалансированного рациона; группа 2 – крысы получали свинец на фоне избытка НК; группа 3 – на фоне свинца и избытка НК (за 24 ч до взятия проб введен АСК)

Сходство заключается в следующем: 1) в присутствие свинца (активатор тром-

боцитов), возникает гипофибриногенемия, растёт ОКАТ и способность тромбоцитов к агрегации и к высвобождению, ускоряется НВСК и снижается ТкТР, 2) на фоне избытка ниацина все эти сдвиги усиливаются, сопровождаясь активацией фибринолиза и ограничением степени снижения ТкТР ограничивается (снижена в меньшей мере, чем при моделировании травматического токсикоза), 3) введение АСК животным, получавшим свинец при избытке ниацина, ограничивает сдвиги, обнаруженные у крыс 2-й группы, которым АСК не вводили.

Итак, введение АСК в этом эксперименте, как и в двух предшествующих, существенно ускорило фибринолиз (на 60% относительно интактных крыс и на 69 % относительно животных, которые получали свинец на фоне сбалансированного рациона без избытка ниацина) - все различия между степенью эффектов АСК у крыс 2-й и 3-й групп достоверны -  $p < 0.05$ .

В связи с этим можно заключить, что избыток ниацина, несмотря на его способность повышать коагулоактивность тромбоцитов и ускорять НВСК, способствует повышению толерантности к тромбину. Связано это, видимо, с ускоренным образованием плазмينا, вклад которого в противосвертывающую защиту несомненен [А.И.Гришук, 1969; Г.В.Андренко, 1979; Д.М.Зубаиров, 2000; J.Kashiwagi e.a., 2010].

Далее мы изучили влияние избытка ниацина на определявшиеся нами тесты при включении в рацион димефосфона - соединения, снижающего рост КА тромбоцитов, их агрегационной и высвобождающей способности, и скорость НВСК (димефосфон - синергист природных антиоксидантных энзимов [С.Н Ельдецова, 1990; В.Г.Соловьев, 1997; М.К.Умутбаева, 2004; Р.Г.Алборов, 2006]).

Диаграммы рис. 11 демонстрируют следующее: введение димефосфона (группа 1-я) снизило способность к агрегации и к высвобождению тромбоцитов (ОКАТ упала на 29, СА - на 24, АДФ-агрегация на 32%, замедлило выход фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub> на 41 и 37%), замедлило НВСК на 50%, не изменило фибриногенемии (прирост на 7% недостоверен,  $p > 0,05$ ) и повысило ТкТР, как это находили при введении свинца ранее. [А.А.Вакулин, 1998; М.К.Умутбаева, 2004; Р.Г.Алборов, 2009]. Фибринолиз замедлился на 11% (видимо из-за ограничения консумпции фибриногена при торможении НВСК); 2) введение димефосфона и избытка ниацина (группа 2-я) ограничило сдвиги ОКАТ, АДФ-агрегации, исключило сдвиг СА, затормозило высвобождение фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>, повысило прирост ТкТР и заметно активировало фибринолиз (все различия достоверны -  $p$  для сравниваемых показателей в группе 1-й со 2-й  $< 0,05$ , что видно по величинам полос погрешностей на рис. 10); 3) введение АСК крысам, получавшим 10 дней димефосфон и избыток ниацина (группа 3-я), сопровождалось ещё более выраженным ограничением ОКАТ и способности к агрегации и к реакции высвобождения, чем у крыс, не получавших АСК на фоне димефосфона и ниацина (группа 2-я); особо значимо то, что у крыс группы 3-й заметно вырос



уровень фибриногена, повысились ТкТР и фибринолиз.

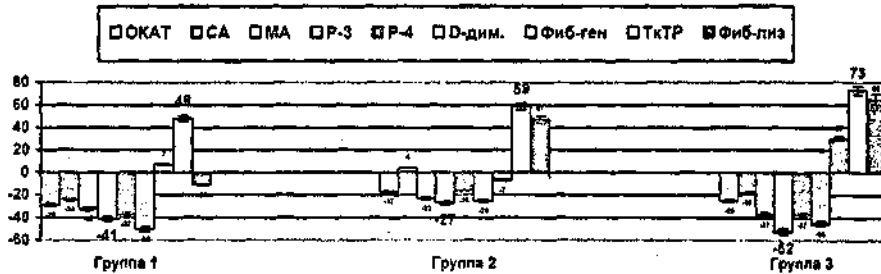


Рисунок 11. Изменения изученных величин у крыс (в % от контроля), которые получали димефосфон в течение 10 сут: группа 1 только димефосфон (со сбалансированным рационом); группа 2 димефосфон и избыток ниацина; группа 3 — димефосфон и избыток ниацина (за 24 ч до взятия проб введен АСК).

В целом влияние димефосфона (фактора, который благодаря антиоксидантным свойствам тормозит ЛПО и повышает антиоксидантный потенциал) выразилось сдвигами, противоположными по направленности тем, которые найдены при введении ниацина на фоне гипертромбинемии (сравнить диаграммы рис. 9 и 10 с рис. 11).

Итак, эффекты АСК и ниацина по влиянию на ТкТР, реализуемые с наибольшей вероятностью через активацию фибринолиза, выявляются у животных в условиях физиологической нормы, но ещё заметнее у животных с экспериментальной гиперили гипоккоагуляцией.

Характер эффекта (синергический или аддитивный?), будучи оценен по Диксо-ну и Уэббу, выразился формулой  $i_{1,2} = (i_1 + i_2) - (i_1 \times i_2)$ . Следовательно, эффект ниацина и АСК на ТкТР является аддитивным. Суммация эффектов не является полной - фактически установленная степень влияния АСК и ниацина при совместном введении ниже, чем простая сумма их частных эффектов. Поэтому корректно обозначать совместный эффект АСК и ниацина как неполную или частичную суммацию.

Завершая эксперименты мы провели опыты, относящиеся по характеру к принятым в патофизиологии: изучили влияние возрастающего избытка ниацина и однократного введения АСК на частоту выживания животных при точно дозируемой тромбинемии. На рис. 12 и 13 представлены результаты этих экспериментов.

Диаграммы рисунка 12 отражают следующее: 1. С ростом дозы ниацина (опыт 1-й) от значения, равного суточной потребности (250 мкг/кг) до 4-кратной, частота выживания возросла на 44%, а с увеличением дозы до 8-микратной частота выживание увеличилось уже на 56% ( $p < 0,05$ ); при увеличении дозы ниацина до 16-кратной к потребности прирост выживаемости не увеличился. Это согласуется с уже рассмотренными результатами экспериментов в отмеченном интервале прирост дозы ниацина не отражается существенно на величине ТкТР. 2. Введение АСК

животным, получавшим предварительно ниацин (опыт 2-й) усиливает влияние ниацина на частоту выживания - при 4-кратной дозе частота выживания 80%, при 8-кратной - 87%, при 16-кратной частота выживания приближается к абсолютной - 97%.

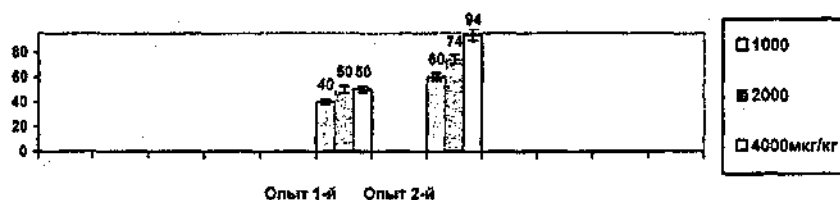


Рисунок 12. Изменения частоты выживания крыс (в % к контролю - крысы получали рацион без добавок): опыт 1 крысы 3-х подгрупп 10 дней получали ниацин (1,000 2,000 или 4,000 мг/кг, что выше потребности в 4, 8 и в 16 раз); опыт 2 - крысы 3-х подгрупп получали 10 дней ниацин в тех же дозах; в последний день введен АСК (150мг/кг). На 11-е сут всем крысам ввели в вену тромбин и установили частоту выживания за 24 ч.

На диаграммах рис. 13 сравниваются влияние на выживание ниацина и АСК совместно в сравнении с влиянием АСК при его введении крысам, получавшим сбалансированный рацион без избытка ниацина. Здесь видно (сопоставить с рис. 12), что АСК, как и ниацин, повышает частоту выживания крыс после введения им тромбина в дозе  $DL_{50}$ . Однако рост частоты выживания ниже, чем после введения АСК крысам, получавшим избыток ниацина.

Введя данные о частоте выживания при введении АСК на фоне рациона без добавок, и данных, полученных при введении АСК крысам, получавшим избыток ниацина (4-, 8- или 16-кратный), в уравнение Диксона и Уэбба, во всех случаях нашли равенство левой и правой частей:  $(i_{1,2} = (i_1 + i_2) - (i_1 \times i_2))$ . Ещё раз уже в другой экспериментальной ситуации, подтвердилось, что эффекты АСК и ниацина на гемостаз (здесь на интегральный показатель состояния противосвертывающей системы - ТкТР) суммируются неполностью.

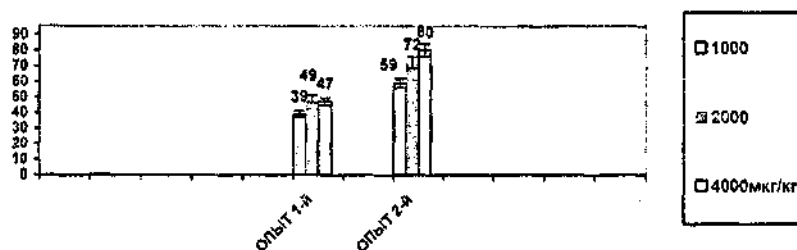


Рисунок 13. Изменения частоты выживания животных (в % к контролю, крысы в котором получали АСК с рационом без добавок); опыт 1-й - крысы, разделенные на 3 подгруппы, 10 дней получали ниацин в дозах 1,000, 2,000 или 4,000 мг/кг, что выше потребности в 4, 8 и в 16 раз; опыт 2 - крысы, разделенные на 3 подгруппы, получали 10 дней ниацин в тех же дозах; в последний день введен АСК (150мг/кг). На 11-е сут всем крысам ввели в вену тромбин и установили частоту выживания за 24 ч.

Таким образом, АСК, вводимый с рационом, сбалансированным по всем нутриентам, снижает общую коагулятивность тромбоцитов, снижает их агрегационные свойства, оцениваемые по спонтанной и АДФ-индуцируемой агрегации, а также по начальной скорости АДФ-агрегации ( $tg\alpha$ ). Одновременно с этим АСК ослабляет способность тромбоцитов к высвобождению фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>, вызывает снижение плазменного уровня маркеров взаимодействия тромбин-фибриноген (т.е. замедляет непрерывное внутрисосудистое свертывание крови), и повышает способность организма адекватно реагировать на экзогенную гипертромбинемию (т.е. увеличивает ТкТР).

Степень всех найденных сдвигов, вызываемых АСК, линейно растет с увеличением его дозы в пределах от 150 до 400 мг/кг. О линейном характере зависимости эффекта от дозы АСК свидетельствуют значения коэффициентов аппроксимации ( $R^2$ ) трендов, характеризующих зависимость степени сдвигов от дозы ( $R^2$  для каждого оценивавшегося показателя не выходят за пределы от 0,94 до 0,98). Вместе с тем, увеличение дозы АСК (до 500 и 600 мг/кг) не ведет к достоверному усилению его влияния на изучавшиеся показатели состояния тромбоцитов, на НВСК и на ТкТР.

Динамика сдвигов всех показателей при разных дозах АСК предельно сходна: углы наклона трендов к оси категорий с увеличением дозы от 150 до 400 мг/кг колеблются от 42° до 48°, а эти малые различия между углами наклона трендов каждого показателя недостоверны - для всех сравниваемых пар тестов величины  $p > 0,05$ . Наиболее сходна динамика сдвига значений  $p$  в парах «сдвиги НВСК» и «изменения плазменного уровня ПДФ, РКМФ или D-димеров» (с каждым в отдельности).

Пределы сдвигов ошибки средней арифметической ( $m$ ) и среднеквадратического отклонения ( $\sigma$ ) для величин, характеризующих изменения уровня D-димеров в разных ситуациях, меньше, чем для других маркеров НВСК. В связи с этим можно считать корректным суждение об интенсивности НВСК по уровню D-димеров, как это делали и другие исследователи [И.М.Воробьева и др., 2009; de Moerloose, F.Boehlen, 2003].

Всё вышесказанное относится к результатам, полученным через 24 ч после введения АСК. Через 48 и 72 ч даже значительное увеличение испытывавшихся доз АСК мало изменяет силу его влияния на общую коагуляционную активность тромбоцитов, их агрегационную и «высвобождающую» способность.

Содержание крыс на В<sub>3</sub>-авитамином рационе снижает общую коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, замедляет НВСК, не изменяя достоверно толерантности к тромбину.

Включение в рацион питания избытка ниацина, в количествах, адекватных лечебным дозам, сопровождается ростом общей КА тромбоцитов, повышением их агрегационной и высвобождающей способности, ускорением НВСК и ростом толерантности к тромбину.

Следовательно, избыток ниацина в дозах, адекватных лечебным, повышает КА тромбоцитов, являющихся, как установлено ранее [А.Ш.Бышевский и др., 1996; С.Л.Галян и др., 1997; Р.Г.Алборов, 2005; А.В.Багумян и др., 2007; Р.Г.Алборов и др., 2009; R.Beigel e.a., 2011], инициаторами ускорения непрерывного внутрисо-

судистого свертывания. Это обстоятельство не согласуется с данными об отрицательной ассоциации между НВСК и общей коагуляционной активностью тромбоцитов, описанной многими исследователями [И.В.Ральченко, 1998; П.Я.Шаповалов, Э.А.Шабанов, 1999; А.В.Багумян и др., 2007; Р.Г.Алборов и др., 2009; И.А.Дементьева, 1998; Р.Г.Алборов и др., 2009; С.М.Chesney e.a., 2000]. Наличие такой необычной ассоциации нашло объяснение в наших опытах, сопровождавшихся контролем состояния фибринолиза: его активность увеличивалась при введении АСК, избытка ниацина, и особенно обоих одновременно. Так, показано, что ниацин в дозах, адекватных лечебным, не только повышает коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации, к реакции высвобождения, к интенсификации НВСК, но и заметно ускоряет фибринолиз в эйглобулиновой фракции плазмы. Ускоряется лизис фибрина в эйглобулиновой фракции плазмы и при введении АСК (хотя и в небольшой степени). Фибринолиз же, являясь существенной составляющей противосвертывающей защиты организма [Б.А.Кудряшов, 1975; Г.С.Андреевко, 1979; А.Ш.Бышевский и др., 1990; Д.М.Зубаиров, 2000], активируясь, не может не увеличивать толерантности к тромбину даже при высокой активности тромбоцитов. Это следует из данных, показавших, что на фоне воздействий, вызывающих рост общей свертывающей активности крови, ускорение фибринолиза может сопровождаться снижением частоты гибели животных (следовательно, повышением частоты выживания) после введения им токсических доз тромбина [Г.С.Андреевко, 1979; А.И.Ивашковский, 1986; Е.М.Шаповалова, 2010; В.Л.Вотт e.a., 2011].

При введении АСК на фоне предварительного избыточного обогащения организма ниацином, его влияние на активность тромбоцитов сглаживается, а способность ускорять фибринолиз и повышать толерантность к тромбину, возрастает по типу неполной суммации эффектов.

АСК и ниацин (последний в разных дозах), вводимые порознь и совместно, вызывают изменения КА тромбоцитов. Динамика эффектов АСК и ниацина во времени и в зависимости от дозы при их введении порознь или совместно тесно положительно ассоциирована (при всех сочетаниях по два) показателей коагулоактивности (ОКАТ, СА, МА, фф. P<sub>3</sub> и P<sub>4</sub>) и показателей НВСК (плазменный уровень ПДФ, РКМФ и D-димеров). Это следует из того, что значения r, для каждой пары колеблются в малых пределах (от 0,7 до 0,9).

Изменения толерантности к тромбину, как и изменения скорости фибринолиза также положительно ассоциированы между собой, однако, они отрицательно ассоциированы с показателями ОКАТ, показателями способности тромбоцитов к агрегации и с показателями, характеризующими НВСК: во всех анализируемых сочетаниях по два значения r, варьируют в пределах от 0,72 до 0,95.

АСК и ниацин способны повышать фибринолитическую активность в эйглобулиновой фракции плазмы и ТкТР, что особенно выразительно при введении АСК на фоне предварительного обогащения организма ниацином в дозах, адекватных лечебным. Причем, выявляется это у здоровых животных и у животных, подвергшихся, воздействиям, которые приводят к ускорению тромбиногенеза в степени,

приводящей к ускоренному потреблению фибриногена.

Установленные факты обосновывают целесообразность и, более того, необходимость продолжать изучения эффектов АСК и ниацина, как средств направленного воздействия на гемостаз, которое реализуется через их влияние на тромбоцитарный компонент, фибринолиз и опосредованно на толерантность к тромбину.

Исследования в этом направлении целесообразно продолжить в условиях эксперимента с использованием моделей, близких к реальным. Целью такого рода исследований должно быть составление или уточнение перечня патологических состояний, при которых эффекты совместного применения АСК и ниацина положительно изменяют толерантность к тромбину, т.е. способность организма адекватно реагировать на воздействия, провоцирующие ускорение тромбообразования. Особенно важно продолжить наблюдения, которые позволят определить оптимальное соотношение доз АСК и ниацина, а также схемы их назначения при совместном введении на фоне разнообразных по механизму развития тромбофилических состояний.

Не менее важно продолжить клинические наблюдения за эффективностью совместного использования АСК и ниацина как средств снижения частоты тромбогеморрагических осложнений при заболеваниях, протекающих с склонностью к тромбофилии.

#### ВЫВОДЫ

1. Введение ацетилсалициловой кислоты в дозе  $DL_{50}$  со сбалансированным по микро- и макронутриентам рационом питания снижает общую коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации, к реакции высвобождения и замедляет непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, повышая толерантность к тромбину и ускоряя фибринолиз.

2. Дозозависимость эффектов АСК на общую коагуляционную активность тромбоцитов, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, толерантность к тромбину и фибринолиз выражена только через 24 ч после введения и малозаметна через 48 и 72 ч.

3. При содержании животных на рационе без ниацина снижается общая коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, замедляется непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, падает толерантность к тромбину и активность фибринолиза.

4. Избыток в рационе ниацина в дозах, превышающих суточную потребность в 4, 8 или 16 раз, повышает общую коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации и к реакции высвобождения, ускоряет непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, ускоряет фибринолиз и повышает толерантность к тромбину.

5. Введение АСК на фоне питания рационом с избытком ниацина, активирующее влияние витамина на активность тромбоцитов компенсируется его свойством ускорять фибринолиз, и это обеспечивает рост толерантности к тромбину за счет суммации эффектов ниацина и АСК на фибринолиз.

6. На фоне предварительной нагрузки животных избытком ниацина в дозах, адекватных лечебным, введение АСК ограничивает активирующее влияние ниаци-

на на коагулоактивность тромбоцитов, их способность к агрегации, к реакции высвобождения и к ускорению непрерывного внутрисосудистого свертывания крови, что обуславливает рост толерантности к тромбину; эта способность АСК ещё более выражена при его введении на фоне избытка ниацина на фоне гипертромбинемии, вызванной травматическим токсикозом, повторной кровопотерей или введением прооксиданта.

7. Однократное введение АСК без избытка в рационе ниацина и на фоне предварительной нагрузки ниацином повышает частоту выживания животных при внутривенном введении им тромбина в дозе  $DL_{50}$ .

8. Характер сдвигов ОКАТ, СА, МА, фф.  $P_3$ ,  $P_4$ , ПДФ, РКМФ и D-димеров во времени и в зависимости от дозы АСК или ниацина сходен: разница между углами наклона трендов к оси категорий недостоверна ( $p > 0,05$ ); сдвиги тесно положительно ассоциированы между собой ( $r$ , колеблется в пределах 0,7-0,9); сдвиги ТкТР и скорости фибринолиза положительно ассоциированы между собой, и отрицательно - с изменениями показателей состояния тромбоцитов и НВСК (во всех сочетаниях по 2 коэффициент  $r$ , варьируют от 0,7 до 0,9).

#### Публикации по теме диссертации

1. Самойлов М.А., Влияние ингибиторов циклоксигеназы на агрегационные свойства тромбоцитов, непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и толерантность к тромбину /соавт. Шаповалова Е.П., Ткаленко И.А., Рудзевич А.Ю. и др. // Медицинская наука и образование Урала. - 2010. - 4 (64). - С.53-56.
2. Самойлов М.А., Роль тромбоцитов в реакции на гипертермию /соавт. Бышевский А.Ш., Карпова И.А., Рудзевич А.Ю., Ткаленко И.А. // Медицинская наука и образование Урала. - 2011. - 1(65). - С.59-61.
3. Самойлов М.А., Влияние ниацина и АСК (порознь и одновременно) на частоту выживания животных при экзогенной тромбинемии /соавт. Ткаленко И.А. // Медицинская наука и образование Урала. - 2011. - 2 (66). - С.95-97
4. Самойлов М.А., Влияние эстрогенов и гестагенов на коагуляционный и тромбоцитарный гемостаз, непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и толерантность к тромбину, их коррекция антиоксидантами /соавт. Бышевский А.Ш., Шаповалов П.Я., Ткаленко И.А. Карпова И.А. // Омский научный вестник. - 2011. - 1 (104). - С. 105-109
5. Самойлов М.А., Гемостаз, перекисное окисление липидов и витамины. Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды /соавт. Бышевский А.Ш., Шаповалов П.Я., Галян С.Л., Ткаленко И.А., и др. // Матер. III международной научно-практической конф. - 2010. - Челябинск.: Челяб. гос. пед. университет. - С.40-43.
6. Самойлов М.А., Эффекты сочетания ниацин-АСК на коагулоактивность тромбоцитов, толерантность к тромбину и фибринолиз /соавт. Ткаленко И.А. // Матер. Всероссийской научно-практической конф. биохимиков и специалистов по лабораторной медицине: ОмскаяГМА. - 2011. - С.260-265.
7. Самойлов М.А., Влияние АСК на коагулоактивность тромбоцитов и толерантность к тромбину /Ткаленко И.А. // Матер. Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине: ОмскаяГМА. - 2011. - С.283-288.

---

### Использованные сокращения

АСК	Ацетилсалициловая кислота
ВТФ	Взаимодействие тромбин-фибриноген
D-D	D-димеры
ЛПНП	Липопротеиды низкой плотности
ЛПО	Липидпероксидация
НВСК	Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови
НПВС	Нестероидные противовоспалительные средства
НК	Никотиновая кислота
ПДФ	Продукты деградации фибрина
РФМК	Растворимые фибринмономерные комплексы
Ф. (фф.)	фактор (факторы)
КА	Коагуляционная активность

Самойлов Максим Алексеевич

**ВЛИЯНИЕ ИНАЦИНА НА ВЫЗЫВАЕМЫЕ  
АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ СДВИГИ  
КОАГУЛОАКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ, НЕПРЕРЫВНОГО  
ВНУТРИСОСУДИСТОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ  
И ТОЛЕРАНТНОСТИ К ТРОМБИНУ**  
(экспериментальное исследование)

03.01.04 –биохимия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.

Подписано к печати 18.04.2012 г.

Отпечатано на ризографе с готового оригинал-макета,  
представленного автором.

Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Усл.-печ. л. 1,5 Уч.-изд. л. 1,5.

Тираж 100 экз. Заказ № 20.

450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3,  
ГБОУ ВПО БГМУ Минздравсоцразвития России

---

12-12126

2012A  
12-126