

УДК 57. 052: 115: 616. 151. 5

©Коллектив авторов

ЭРИТРОЦИТЫ И ЛЕЙКОЦИТЫ В РЕАЛИЗАЦИИ СВЯЗИ МЕЖДУ ПЕРЕКИСНЫМ ОКИСЛЕНИЕМ ЛИПИДОВ И ГЕМОСТАЗОМ

*А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, И.В. Ральченко, Р.Г. Алборов, М.К. Умутбаева,
А.Ю. Рудзевич, Е.А. Винокурова*

Тюменская государственная академия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54,
ТГМА, кафедра биохимии; факс: (3452) 20-62-00; эл. почта: biochem@tgma.info

Экспозиция с нормальной плазмой эритроцитов, нейтрофилов или моноцитов (физиологические концентрации), взятых у крыс, получавших прооксидант (ацетат свинца) или антиоксидант (селмевит), повышает или соответственно снижает спонтанную и ADP-индуцированную агрегацию тромбоцитов, высвобождение факторов P_3 и P_4 , а также интенсивность липопероксидации в них. Эффект опосредуется продуктами липопероксидации, которые эритроциты и лейкоциты выделяют в окружение.

Предполагается, что эффективность антиоксидантов (в частности, витаминов с антиоксидантными свойствами), используемых в клинике для коррекции гиперкоагуляционных сдвигов при оксидативном стрессе, обусловлена их способностью ограничивать перекисное окисление липидов в эритроцитах, лейкоцитах и в тромбоцитах.

Ключевые слова: липопероксидация, гемостаз, эритроциты, лейкоциты.

ВВЕДЕНИЕ. Взаимозависимость гемостаза и липопероксидации несомненна [1], реализуют её преимущественно тромбоциты [2-4], интенсивно продуцирующие активные формы кислорода и продукты перекисного окисления липидов - липопероксиды [5]. Эритроциты и лейкоциты, высвобождая коагулоактивные соединения, в частности, эритроцитин и тканевой фактор, участвуют в гемостазе [2, 6-8]. Влияние этих клеток на гемостаз за счет образования липопероксидов в них недостаточно изучено, хотя известно, что содержание последних в крови зависит от интенсивности перекисного окисления липидов в эритроцитах и лейкоцитах [9-11], что антиоксиданты ограничивают гиперкоагуляционные сдвиги [12, 13], а первичная активация гемостаза ускоряет свободно-радикальные процессы [14].

Цель представленной работы – изучить роль эритроцитов и лейкоцитов в реализации связи между липопероксидацией и гемостазом.

МЕТОДЫ. Липопероксидацию оценивали по содержанию диеновых конъюгатов и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, антиоксидантную активность - по периоду индукции и скорости окисления с помощью флуориметра “Биан-130” [15]. Спонтанную и индуцированную ADP-агрегацию контролировали агрегометром “Биола”, индуктор агрегации – ADP в конечной концентрации 2×10^{-5} моль/л [16, 17]. Уровень в плазме факторов P_3 , P_4 оценивали по Rabiner и Groder [16].

Эритроциты и лейкоциты выделяли из стабилизированной гепарином крови (5 000 ед/мл). Тромбоциты выделяли, отмывали и определяли их содержание по описанию [18], эритроциты выделяли как описано [19], определяя их содержание унифицированным методом [20].

Нейтрофилы, моноциты и лимфоциты выделяли в градиенте фиколл/гипак (4 вида смесей из растворов 9% фиколла и 50% гипака): А - 15,0 мл фиколла + 10 мл гипака (D - 1,14 г/мл); Б - 17,5 мл фиколла + 10 мл гипака (D - 1,13 г/мл); В - 20,0 мл фиколла + 10 мл гипака (D - 1,12 г/мл); Г - 24,0 мл фиколла + 10 мл гипака (D - 1,06 г/мл). Составляя градиенты, в центрифужную пробирку настилали по 2 мл смесей Г, В, Б и А, наносили на верхний слой 2 мл гепаринизированной плазмы, разведенной 1:2 буфером Михаэлиса на 0,14 М растворе NaCl. Центрифугировали 40 мин (1000 g, 22°C), снимали плазму, оставляя слой в 2 мм, который собирали отдельно (лимфоциты и моноциты, чистота 97-98%), отсасывали слой между столбиками смесей Г и В - нейтрофилы (чистота 94-99%), между слоями смесей Б и А - эозинофилы (чистота 80-90%). Фракции клеток осаждали центрифугированием, осадок дважды промывали 0,14 М раствором NaCl. Фракцию лимфоциты + моноциты (2:1) выделяли в градиенте фиколл/триомбаст: смесь А - 10 объемов 34% раствора триомбаста и 24 объема 9% раствора фиколла (D - 1,075 г/мл); смесь В - 10 объемов 34% раствора триомбаста и 24 объема 14,6% раствора фиколла (D - 1,097 г/мл). На градиент из 5 мл смеси А и 5 мл смеси В настилали 10 мл гепаринизированной крови, разведенной 1:2, центрифугировали (40 мин, 400 g, 22°C). Соотношение лимфоциты/моноциты в супернатанте - 2:1, чистота - 89%, примесь гранулоцитов - 1,2% [21]. Разделяли лимфоциты и моноциты изокинетическим методом (чистота моноцитов - 91%) [22].

Опыты проведены на 213 белых крысах (150±15 г), содержащихся в индивидуальных клетках, получавших корм вязкой консистенции (каши из смеси овсяной и ячменной круп, овощи и растительное масло), что позволило равномерно распределять вводившиеся с рационом вещества. Вводили их утром с ½ суточной порцией, и после потребления вносили в кормушку остаток рациона - это обеспечивало полное потребление добавок. Подопытным крысам с рационом вводили прооксидант (ацетат свинца, 50 мг/кг) или антиоксидант (димефосфон, 1, 2 или 3 г/кг), контроль добавок не получал. Как показано ранее, свинец в дозе 50 мг/кг в течение 12-15 дней не вызывает выявляемых нарушений порфиринового обмена, ускоряя липопероксидацию и активируя гемостаз [1, 23]. Наименьшая из использованных доз антиоксиданта (димефосфона) в этих условиях полностью блокирует эффект свинца на липопероксидацию и гемостаз, дозы 2 и 3 г/кг заметно замедляют перекисное окисление липидов, позволяя оценить зависимость между степенью торможения липопероксидации и степенью ограничения гемостатического потенциала [1, 25].

На 13-й день опыта брали кровь под эфирным наркозом из яремной вены, объединяя пробы 3-х крыс, получали нормальную плазму и делили на 2 порции. К 1-й порции добавляли один из видов исследуемых клеток в конечной концентрации, близкой к физиологической, к 2-й порции - 0,14 М раствор NaCl. После 30 мин экспозиции клетки отделяли центрифугированием без осаждения тромбоцитов (2000 g, 20 мин). Изучали влияние супернатанта (0,2 мл/мл нормальной плазмы) на агрегацию тромбоцитов, уровень факторов P₃, P₄ и липопероксидов.

Во 2-й серии опытов крыс разделили на 3 группы: 1-я - без дополнений к рациону (контроль); 2-я группа, включавшая 3 подгруппы, - получала димефосфон (по 1, 2 или 3 г/кг, 12 дней); 3-я группа (2 подгруппы) получала ацетат свинца (50 или 100 мг/кг, 12 дней). На 13-й день брали пробы крови (объединяли плазму 3 крыс одной группы), центрифугировали (800 g, 10 мин), плазму отделяли, повторно центрифугировали (1400 g, 20 мин), определяя продукты липопероксидации в бесклеточном супернатанте и его влияние на спонтанную и индуцированную ADP-агрегацию.

Результаты обрабатывали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений, вычисляя среднюю арифметическую, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней. Достоверность отличий оценивали, вычисляя доверительный коэффициент Стьюдента (t) и величину вероятности (p). Различия оценивали как достоверные при степени вероятности < 0,05. Графический анализ проводили в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 98).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Из всех изучавшихся клеток на активность и липопероксидацию тромбоцитов при экспозиции с ними влияли эритроциты, нейтрофилы и моноциты. Из данных таблицы 1 видно, что экспозиция нормальной плазмы с этими клетками, взятыми у интактных крыс, повышает содержание первичных и вторичных липопероксидов, ускоряет спонтанную и ADP-агрегацию тромбоцитов и высвобождение факторов P_3 и P_4 . Наиболее выражено влияние моноцитов.

Таблица 1. Липопероксидация, спонтанная и ADP-агрегация тромбоцитов, факторы P_3 и P_4 после экспозиции субстратной плазмы крыс, не получавших добавок, с эритроцитами (1-я строка), нейтрофилами (2-я строка), моноцитами (3-я строка), выделенными из крови крыс, получавших димефосфон или свинец (n=7 на всех этапах).

Показатели	Интактные крысы	Крысы не получали добавок	Крысы получали димефосфон, 2 г/кг	Крысы получали свинец, 50 мг/кг
Диеновые конъюгаты, А/мг липидов	0,05±0,003	0,07±0,003* 0,08±0,004* 0,11±0,005*	0,04±0,002 ⁺ 0,05±0,002 ⁺ 0,08±0,004 ⁺	0,11±0,003* ⁺ 0,09±0,003* ⁺ 0,15±0,004* ⁺
Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, ед./мг липидов	1,23±0,08	1,57±0,09* 1,50±0,09* 1,69±0,11*	1,09±0,07* ⁺ 1,19±0,08 ⁺ 1,11±0,09* ⁺	1,98±0,11* ⁺ 1,63±0,09* ⁺ 2,09±0,14* ⁺
Период индукции, мин/мл	45,4±2,1	38,0±2,1* 38,3±2,0* 33,2±1,8*	52,8±2,4* ⁺ 51,2±2,1* ⁺ 47,3±1,9 ⁺	31,9±1,8* ⁺ 32,1±1,8* ⁺ 29,4±1,2* ⁺
Спонтанная агрегация, %	5,8±0,30	6,9±0,31* 6,2±0,28* 6,9±0,27*	5,3±0,25 ⁺ 5,4±0,31 ⁺ 5,8±0,22 ⁺	7,4±0,31* ⁺ 7,1±0,33* ⁺ 8,0±0,29* ⁺
ADP-агрегация, %	61,5±1,47	78,0±2,1* 81,7±3,3* 92,0±2,1*	66,0±3,2 ⁺ 63,8±3,4 ⁺ 67,4±3,7 ⁺	96,1±3,0* ⁺ 94,2±2,9* ⁺ 98,8±3,1* ⁺
Фактор P_3 , %	91,1±2,4	121±7,1* 129±2,2* 144±3,2*	91,9±3,8 ⁺ 90,9±4,1 ⁺ 90,1±3,1 ⁺	131±2,1* ⁺ 136±2,2* ⁺ 184±3,2* ⁺
Фактор P_4 , с	3,2±0,04	5,4±0,03* 4,7±0,02* 6,4±0,03*	3,5±0,02* ⁺ 3,2±0,03* ⁺ 3,4±0,02* ⁺	6,1±0,4* ⁺ 5,8±0,8* ⁺ 7,5±0,9* ⁺

Примечание (здесь и в таблице 2): знак * - достоверное отличие при сравнении с контролем; знак ⁺ - сравнение значений в 3-й и 4-й колонке со 2-й колонкой.

Те же клетки крови крыс, получавших димефосфон, в меньшей мере изменяли липопероксидацию, агрегацию тромбоцитов и уровень факторов P_3 и P_4 . Клетки крови крыс, получавших свинец, значительно, чем в контроле активировали липопероксидацию, агрегацию и повышали уровень факторов P_3 и P_4 .

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ, ЛИПОПЕРОКСИДАЦИЯ И ГЕМОСТАЗ

Особенно существенным оказалось влияние антиоксиданта (димефосфона) и прооксиданта (свинца) на эффект моноцитов.

Рассмотренные данные (влияние про- и антиоксиданта на способность исследуемых клеток крови изменять липопероксидацию тромбоцитов и их прокоагулянтные свойства) согласуются с представлением о ключевой роли тромбоцитов в реализации связи липопероксидация-гемостаз [2, 14].

Из данных таблицы 2 следует, что эритроциты, нейтрофилы и моноциты влияют на тромбоциты и без прямого контакта с ними - эффект опосредован факторами, выделившимися в среду инкубации. Степень изменения агрегации и высвобождения факторов P_3 и P_4 примерно та же, что и при непосредственном контакте эритроцитов или лейкоцитов с тромбоцитами.

Таблица 2. Липопероксидация, спонтанная и ADP-агрегация тромбоцитов, факторы P_3 и P_4 после экспозиции субстратной плазмы крыс, не получавших добавок, с супернатантом среды, в которой предварительно экспонировали эритроциты (1-я строка), нейтрофилы (2-я строка), моноциты (3-я строка) из крови крыс, получавших димефосфон или свинец (n=8 на всех этапах). Клетки после экспонирования в среде были удалены центрифугированием.

Показатели	Интактные крысы (те же, что в табл. 1)	Крысы не получали добавок	Крысы получали димефосфон, 2 г/кг	Крысы получали свинец, 50 мг/кг
Дисковидные конъюгаты, А/мг липидов	0,05±0,003	0,06±0,002* 0,07±0,003* 0,09±0,004*	0,04±0,003* ⁺ 0,03±0,001* ⁺ 0,04±0,004* ⁺	0,07±0,002* ⁺ 0,08±0,003* ⁺ 0,11±0,002* ⁺
Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, ед./мг липидов	1,23±0,08	1,36±0,08* 1,40±0,05* 1,51±0,09*	1,09±0,06* ⁺ 1,12±0,07* ⁺ 1,15±0,07* ⁺	1,79±0,10* ⁺ 1,54±0,08* ⁺ 1,68±0,12* ⁺
Период индукции, мин/мл	45,4±2,1	41,1±1,9* 41,1±1,7* 36,4±1,9*	43,9±2,4 ⁺ 50,4±2,0* ⁺ 49,5±1,3* ⁺	33,9±1,9* ⁺ 31,0±1,7* ⁺ 29,9±1,3* ⁺
Спонтанная агрегация, %	5,1±0,21	6,0±0,23* 5,5±0,23* 6,1±0,22*	4,1±0,20 ⁺ 4,3±0,21 ⁺ 5,1±0,19 ⁺	6,8±0,23* ⁺ 6,2±0,22* ⁺ 7,2±0,24* ⁺
ADP-агрегация, %	57,4±1,42	68,1±2,2* 71,6±3,1* 81,1±2,2*	61,0±3,0 ⁺ 62,4±3,1 ⁺ 64,7±3,5 ⁺	76,2±3,1* ⁺ 83,1±2,6* ⁺ 88,0±3,2* ⁺
Фактор P_3 , %	80,0±2,4	92,1±6,1* 95,3±3,1* 114±3,1*	81,4±3,2 ⁺ 84,9±2,0 ⁺ 87,0±2,1 ⁺	122±2,4* ⁺ 129±2,1* ⁺ 147±3,3* ⁺
Фактор P_4 , с	2,8±0,03	4,3±0,02* 4,1±0,01* 5,3±0,03*	2,7±0,02 ⁺ 2,9±0,02 ⁺ 3,1±0,03 ⁺	3,4±0,5* ⁺ 3,8±0,6* ⁺ 4,6±0,8* ⁺

Менее выраженное влияние среды, в которой экспонировали эритроциты или лейкоциты крыс, получавших димефосфон, и более заметное в случае, если крысы получали ацетат свинца, указывает на роль липопероксидов в реализации эффекта клеток на тромбоциты.

Это подтверждается результатами изучения влияния липопероксидов, накапливающихся при инкубации клеток крови, на активность тромбоцитов. В таблице 3 видно, что добавление растворителя не меняет агрегации тромбоцитов (контроль), что количество липопероксидов в бесклеточной плазме крыс пропорционально дозе вводившегося анти- или прооксиданта (соответственно снижение или рост), что влияние бесклеточной плазмы на агрегацию зависит от концентрации липопероксидов в ней.

Таблица 3. Содержание липопероксидов в плазме крыс, получавших антиоксидант или прооксидант, влияние этой плазмы на спонтанную и ADP-агрегацию тромбоцитов субстратной плазмы крыс (n=6).

В субстратную плазму добавляли бесклеточную плазму крыс, получавших:	Дисенные конъюгаты, А/мг липида	ТБК-активные продукты, ед./мг липида	Спонтанная агрегация, %	ADP-агрегация, %
димефосфон, 1 г/кг	0,05±0,002*	0,13±0,001*	4,8±0,19*	56,9±1,2*
димефосфон, 2 г/кг	0,04±0,002*	0,09±0,005*	4,3±0,17*	51,5±2,4*
димефосфон, 3 г/кг	0,03±0,001*	0,07±0,003*	4,0±0,14*	47,3±1,6*
ацетат свинца, 50 мг/кг	1,04±0,003*	0,63±0,012*	7,8±0,21*	79,9±3,2*
ацетат свинца, 100 мг/кг	1,36±0,003*	0,95±0,012*	8,4±0,24*	89,4±3,2*
контроль с растворителем	0,08±0,003	0,23±0,010	5,5±0,21	55,4±2,3

Примечание: * – достоверное отличие от контроля.

Далее мы в прямом опыте изучили степень изменения контролируемых свойств тромбоцитов в зависимости от концентрации липопероксидов. Для этого кровь 4-х крыс, получавших 20 дней прооксидант (10 мг ацетата свинца/кг ежедневно), объединили и нашли в освобожденной от клеток плазме высокую концентрацию первичных ($2,21 \pm 0,001$ А/мг липида) и вторичных ($1,32 \pm 0,0005$ ед./мг липида) липопероксидов. Их сконцентрировали сефадексом G-10, удалив 50% воды и солей. Из концентрата, где содержание первичных и вторичных липопероксидов составило соответственно 3,08 А/мг липида и 2,04 ед./мг липида, приготовили разведения (на буфере Михаэлиса с 0,85% NaCl) в 2, 3, 4 и 6 раз, содержащие липопероксиды (первичные и вторичные) в количестве, составляющем 0,5, 0,33, 0,25 и 0,16 от исходной концентрации. Каждое разведение в равных объемах экспонировали с нормальной плазмой, затем определили ADP-агрегацию тромбоцитов в ней (контроль - экспозиция субстратной плазмы с буферным раствором).

На представленном рисунке видно, что в исследованной плазме агрегация тромбоцитов пропорциональна концентрации липопероксидов.

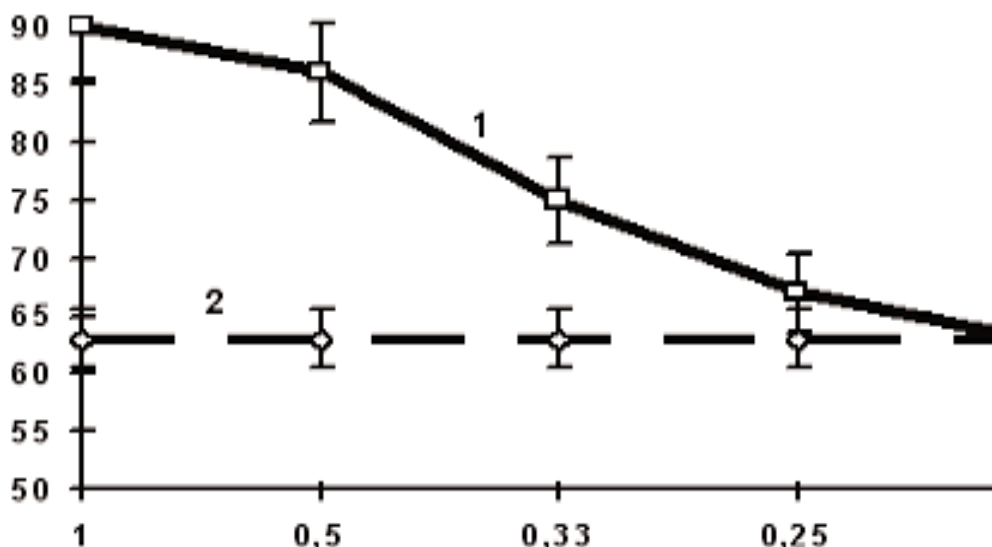


Рисунок.

Абсцисса – концентрация липопероксидов (исходная принята за единицу); ордината – ADP-индуцированная агрегация, %; 1 – график зависимости интенсивности агрегации от концентрации липопероксидов в среде, 2 – агрегация в слепой пробе (липопероксиды не добавляли).

Отметим, что и зависимость уровня факторов P_3 и P_4 от концентрации липопероксидов имеет примерно такой же характер.

Таким образом, степень прироста агрегационной активности тромбоцитов пропорциональна изменению концентрации липопероксидов в их окружении, что подтверждает возможность реализации эффекта антиоксидантов или прооксидантов на агрегацию тромбоцитов через изменения продукции липопероксидов в эритроцитах и лейкоцитах.

Известно, что лейкоциты выделяют в среду протеазы с проагрегантной активностью [24]. Вместе с тем, избыток трасилола (ингибитор протеаз) не влияет на степень активации тромбоцитов лейкоцитами [25]. Тем не менее, следовало выявить, высвобождаются ли при инкубации эритроцитов или лейкоцитов (в буферном растворе с NaCl) липопероксиды, способные изменять интенсивность агрегации и реакции высвобождения тромбоцитов. Для этого провели опыт с тремя группами крыс: группа 1-я (контроль) добавок не получала, 2-я - получала 12 дней ацетат свинца, 3-я - димефосфон (дозы прежние). На 13-й день из 1,5 мл плазмы крыс выделяли эритроциты, нейтрофилы и моноциты, инкубировали их 30 мин в 1,5 мл буферного раствора с 0,14 М раствора NaCl, удаляли клетки центрифугированием и определяли липопероксиды в супернатанте.

Все виды клеток (табл. 4) при инкубации высвобождали первичные и вторичные липопероксиды: моноциты > эритроциты > нейтрофилы. Количество высвободившихся липопероксидов оказалось выше контроля при инкубации клеток крыс, получавших прооксидант и ниже контроля - при введении крысам антиоксиданта. Видимо, эффект изучаемых клеток на ADP-агрегацию и реакцию высвобождения тромбоцитов зависит от количества выделяемых этими клетками в окружение липопероксидов. При инкубации эозинофилов и лимфоцитов в забуференном растворе NaCl прирост концентрации липопероксидов не происходил даже если крысам предварительно вводили прооксидант (свинец).

Таблица 4. Содержание липопероксидов в буферном растворе содержащем, 0,14 М NaCl, после 30 мин инкубации в нем клеток крови крыс: 1-я строка – контрольных, 2-я –получавших ацетат свинца, 3-я –получавших димефосфон.

Продукты ПОЛ	Инкубация в буферном растворе, содержащем 0,14 М NaCl		
	эритроциты	нейтрофилы	моноциты
Дисенные конъюгаты, А/мг липида	0,13±0,02 0,29±0,04* 0,07±0,02*	0,08±0,01 0,14±0,02* 0,04±0,006*	0,25±0,04 0,91±0,07* 0,13±0,02*
Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, ед./мг липида	2,21±0,04 3,48±0,07* 1,71±0,03*	2,01±0,03 2,93±0,05* 1,58±0,03*	2,89±0,06 4,01±0,10* 1,98±0,04*

Примечание: * – достоверное отличие от контроля.

Таким образом, эритроциты, нейтрофилы или моноциты при совместной инкубации с тромбоцитами (в физиологических концентрациях) увеличивают их прокоагулянтные свойства и содержание первичных и вторичных продуктов липопероксидации. Эффект опосредуется липопероксидами, выделяющимися эритроцитами, нейтрофилами или моноцитами в среду. Влияние эритроцитов и лейкоцитов можно усилить или ослабить предварительным введением прооксиданта или антиоксиданта. Это объясняет ранее установленную эффективность витаминов с антиоксидантными свойствами при назначении их в обычных лечебных дозах [1, 3, 14, 22] в коррекции гиперкоагуляционных сдвигов при оксидативном синдроме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бышевский А. Ш., Умутбаева М.К., Алборов Р.Г. (2003) Связь гемостаза с перекисным окислением липидов, Медицинская книга, М.
2. Gawaz M.P. (2001) Blood Platelets, Time, Stuttgart, New York.
3. Bacot S., Bernoud-Hubac N., Baddas N., Chantegrel B., Deshayes C., Doutheau A., Lagarde M., Guichardant M. (2003) Lipid. Res., **44**(5), 917-926.
4. De Cristofaro R., Rocca B., Vitacolonna E., Falco A., Marchesani P., Ciabattini G., Landolfi R., Patrono C., Davi G. (2003) J. Thromb. Haemost., **88**(1), 250-256.
5. Belch J.J.F. (1992) Platelets, **3** (4), 175-180
6. Киричук В.Ф., Волин М.В., Кпеницкий А.П. и др. (2002) Тромбоциты в реакциях системы гемостаза на КВЧ-воздействия. Издательство Саратовского медицинского университета, Саратов.
7. Зубаиров Д.М. (2000) Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. ФЭН АНТ, Казань.
8. Бышевский А.Ш., Зубаиров Д.М., Терсенов О.А. (1993) Тромбопластин. Издательство Новосибирского университета, Новосибирск.
9. Голиков А.П., Голиков П.Н., Давыдов Б.В. (1997) Физиология человека, **23**(5), 49-57.
10. Scoot W.G., Eaton J.W., Kuypers F.A. (1989) Blood, **74**(7), 2542-2549.
11. Siemens W.G., Sommerburg O., Grune T. (2000) Clin. Nephrol., **53**, 9-17.
12. Laroia S.T., Ganti A.K., Laroia A.T., Tendulkar K.K. (2003) Int. J. Cardiol., **88**(1), 1-9.

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ, ЛИПОПЕРОКСИДАЦИЯ И ГЕМОСТАЗ

13. *Pawlak K., Borawski J., Naumnik B., Mysliwiec M.* (2003) *Thromb. Res.*, **109**(5-6), 247-251.
14. *Sorensen M., Daneshvar B., Hansen M., Bendtzen K., Frederiksen J.L.* (2003) *Environ. Health. Perspect.*, **111**, 161-166.
15. *Ушколова В.Н., Иоанидис Н.В., Деева З.М., Кадочникова Г.Д.* (1987) Лаб. дело, №6, 446-460.
16. *Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., Кузник Б.И.* (1980) Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Издательство Томского университета, Томск.
17. *Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилов И.И., Позин Е.И.* (1989) Лаб. дело, **54**(3), 15-18.
18. *Самаль А.Б., Черенкевич С.Н., Хмара Н.Ф.* (1989) Гематол. и трансфузиол., **34**(2), 35-38.
19. *Ашкинази И.Я.* (1977) Эритроцит и внутреннее тромбопластинообразование. Наука, Ленинград.
20. *Меньшиков В.В.* (1987) Лабораторные методы исследования в клинике. Медицина, М.
21. *Pandolfi F., Strong D.M., Slease R.B., Bonnard G.D.* (1981) *Clin. Exp. Immunol.*, **43**(2), 319-328.
22. *Ross G.D.* (1979) *Blood*, **53**, 799-811.
23. *Мухачева И.А., Рудзевич Е.Л., Мкртумян А.М.* (1992) в кн.: Обмен веществ в норме и патологии (А.Ш. Бышевский ред.) ТюмГМИ, Тюмень, с. 64-65.
24. *Scharpe S., De Meester I., Hendriks D., Vanhoof G., van Sande M., Vriend G.* (1991) *Biochimie*, **73**(1), 121-126.
25. *Вакулин А.А.* (1998). Роль эритроцитов и лейкоцитов в поддержании активности тромбоцитов в зависимости от состояния перекисного окисления липидов. Дисс. докт.наук, Медицинская академия, Челябинск.

Поступила: 29. 04. 2004.

ERYTHROCYTES AND LEUCOCYTES IN REALIZATION OF COMMUNICATION BETWEEN LIPID PEROXIDATION AND HEMOSTASIS

*A.Sh. Bichevsky, S.L. Galjan, I.V. Ralchenko, R.G. Alborov, M.K. Umutbaeva,
A. Rudzевич, E.A. Vinokurova*

Tyumen State Academy, Odesskaya ul., 54, Tyumen, 625023 Russia; fax: (3452) 22-62-00;
e-mail: biochem@tgma.info

Investigation of 213 rats has shown that exposition containing normal plasma of erythrocytes, neutrophils or monocytes (physiological concentration) taken from the rats treated with prooxidant (lead acetate) or antioxidant (selmevite) causes corresponding increase or decrease of: a) both spontaneous aggregation and ATP-induced aggregation of thrombocytes, b) releasing P_3 and P_4 factors, c) their lipoperoxidation (LPO) intensity.

The effect is released by LPO products released by erythrocytes and leucocytes into their environment.

The efficacy of antioxidants (vitamins with antioxidant properties in particular) used for correcting hypercoagulative changes in oxidative stress in clinics is supposed to be due to their capacity for limiting lipidoxidation in erythrocytes, leukocytes and thrombocytes.

Key words: lipid peroxidation, hemostasis, erythrocytes, leucocytes.