

ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ГЕМОСТАЗА В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ НА ФОНЕ ПРИЕМА МЕДВЕЖЬЕГО ЖИРА

Соловьев В. Г.¹, Никонова Л. Г.², Гагаро М. А.², Калашникова С. П.², Нехороших А. Ю.²

¹ГБОУ ВПО Минздрава развития России «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова», г. Москва, Россия.

²ГБОУ ВПО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», г. Ханты-Мансийск, Россия, (628011, Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40) e-mail:sp-81@mail.ru.

В процессе изучения антитромбогенных свойств сосудистой стенки было проведено временное клипирование одной из яремных вен в организме животных. В результате в плазме крови наблюдалось увеличение концентрации ТБК-активных продуктов, ускорение непрерывно протекающего свертывания крови. Известно, что с целью коррекции нарушений, возникающих из-за развития окислительного стресса, в настоящее время активно исследуются и применяются препараты, обладающие антиоксидантными свойствами. К данной группе препаратов относится и медвежий жир. Предварительное введение в пищевой рацион экспериментальных животных медвежьего жира снижает концентрацию ТБК-АП в плазме крови, повышает противосвертывающий потенциал плазмы крови, т.о. способствует минимализации последствий ишемии.

Ключевые слова: сосудистая стенка, окислительный стресс, тромботические состояния, обратимая ишемия, медвежий жир.

ALTERATION IN HEMOSTASIS PARAMETERS UNDER CONDITIONS OF ISCHEMIA AGAINST THE BACKGROUND OF BEAR FAT INTAKE

Solovyov V. G.¹, Nikonova L. G.², Gagaro M. A.², Kalashnikova S. P.², Nehoroshyh A. Y.²

¹SBEI HPE of Public Health Ministry of Russia «Moscow State University of Medicine and Dentistry», Moscow, Russia.

²SBEI HPE of Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Ugra «Khanty-Mansiysk State Medical Academy», Khanty-Mansiysk, Russia, (40, Mira st., Khanty-Mansiysk, 628011) e-mail:sp-81@mail.ru.

When studying antithrombogenic properties of the vascular wall, one of the jugular veins was temporarily clipped in the body of animals. As a result, an increase of TBA-active products concentrations in plasma, accelerating of continuously flowing blood clotting process were observed. It is known that in order to correct violations arising from oxidative stress, drugs with antioxidant properties are now being actively investigated and used. Bear fat belongs to this group of drugs. Preliminary dietary intake of bear fat in the experimental animals reduces the concentration of TBA-PA in plasma, increases the potential anticoagulant blood plasma, thus helps to minimize the effects of ischemia.

Key words: vascular wall, oxidative stress, thromboembolic status, reversible ischemia, bear fat.

Введение

В настоящее время в литературе широко обсуждается роль эндотелия в возникновении и прогрессировании ряда заболеваний (атеросклероз, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и др.), в частности, большинство работ посвящено определению так называемой эндотелиальной дисфункции [5, 9].

Показано, что причиной развития эндотелиальной дисфункции могут быть: гиперхолестеринемия, гиперлипидемия, артериальная гипертензия, спазм сосудов, гипергликемия и сахарный диабет, курение, частые стрессовые ситуации, а также различные ишемические повреждения, сопровождающиеся последующей реоксигенацией [8].

Проявления дисфункции эндотелия некоторые исследователи связывают с дисбалансом между продукцией в стенке артерий вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов, с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромботических, пролиферативных факторов – с другой [7]. Вместе с тем большинство авторов склоняются к мнению, что основную роль в механизме развития эндотелиальной дисфункции играет окислительный стресс [2].

Продукты окислительного стресса способствуют вазоконстрикции, повышенному клеточному росту, пролиферации гладкомышечных клеток, накоплению в них липидов, адгезии и агрегации тромбоцитов крови, и как следствие, тромбообразованию в сосудах [4].

Для коррекции данных нарушений в условиях развития окислительного стресса в настоящее время широко используется антиоксидантная терапия, поэтому одним из приоритетных направлений современной медицины является изучение препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами, в том числе с целью применения их для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся активацией свободнорадикальных реакций [10].

Широкие перспективы для практического использования в качестве лекарственных препаратов антиоксидантного действия представляют биологически активные вещества природного происхождения (вещества флавоноидной природы, петидные биорегуляторы, полиненасыщенные жирные кислоты и др.) [3]. К данной группе веществ относится и такая биологически активная добавка, как медвежий жир.

Цель исследования. Изучить антитромбогенную активность сосудистой стенки в условиях обратимой ишемии на фоне приема медвежьего жира.

Материалы и методы исследования. Воссоздание «мягкого» прессорного воздействия на сосудистую стенку с целью изучения ее антитромбогенных свойств проводили на экспериментальных животных (самцы нелинейных белых крыс 3–4-х месячного возраста, весом 350–400 г.; число крыс в группах сравнения составляло 12).

Животные содержались на смешанном сбалансированном рационе с оптимальным соотношением белков, липидов и углеводов. В состав суточных порций опытных групп дополнительно вводили медвежий жир в дозе 0,08 мл на 100 г веса животного. Пероральное введение крысам медвежьего жира осуществляли в течение 14 суток, руководствуясь инструкцией по применению медвежьего жира. Дозы изучаемой субстанции для животных были адекватны рекомендуемым дозам для человека, не вызывающим токсических эффектов. Контрольные группы препарат не получали.

Окклюзионную ишемию моделировали путем временного клипирования одной из яремных вен с забором крови из симметричной вены через 4 минуты.

Болезненные манипуляции производили, подвергая животных наркозу этиксиэтаном. Пробы крови брали в шприц из обнаженной овальным разрезом яремной вены. Кровь для коагулологических исследований стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, а также 0,125 % забуференным раствором глутаральдегида (для исследования морфологии тромбоцитов). Отбор проб, их последующая обработка, в том числе получение бедной тромбоцитами плазмы, соответствовали требованиям, принятым для коагулологических исследований [1].

Оценка плазменного гемостаза (АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПТВ – протромбиновое время; ТВ – тромбиновое время; АТ–III – антитромбин–III; ФГ – фибриноген) осуществлялась согласно инструкциям к наборам фирмы «Технология-стандарт» (г. Барнаул) на коагулографе «ACL-200» (США). Определение концентрации и морфологии тромбоцитов (PLT – содержание тромбоцитов; АФ – активированные формы; Д – дискоциты) проводили путем световой микроскопии в камере Горяева по методу Шитиковой [6].

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме (изменение активности антиоксидантной системы у экспериментальных животных) оценивали по содержанию тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов (ТБК-АП) набором фирмы «Агат-Мед» (г. Москва), руководствуясь инструкцией.

Результаты исследований, имеющие цифровое выражение, анализировали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений. Для оценки достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента (t) и степень вероятности (p). Различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследований и заключение

Исследование медвежьего жира с точки зрения его антиоксидантных свойств выявило следующие результаты.

В группе животных, принимавших с рационом медвежий жир, изначально отмечалось более высокое содержание ТБК–АП в плазме крови по сравнению с контрольной группой, что не нашло своего отражения на системе свертывания крови. Не отмечено значительных изменений со стороны плазменного гемостаза. Тромбоцитарный гемостаз характеризовался увеличением общего количества дискоцитов в плазме крови по сравнению с контрольными животными (табл. 1).

Таблица 1

Показатели системы гемостаза у животных, получавших и не получавших медвежий жир после обратимой окклюзии магистрального сосуда
(по 12 крыс в группе), $M \pm m$

Показатели	К	О	КИ	ОИ
PLT, $\times 10^9$ /л	964 \pm 16	1002 \pm 19	1460 \pm 21	1182 \pm 12
Д, %	56,8 \pm 1,8	61,8 \pm 1,6	34,5 \pm 2,4*	49 \pm 4,1°
АФ, %	43,3 \pm 1,8	38,2 \pm 1,6*	65,5 \pm 2,4	51 \pm 4,2
АФ, $\times 10^9$ /л	416,3 \pm 14	381,8 \pm 15*	954,2 \pm 29	604,5 \pm 52
Фибриноген, г/л	5,8 \pm 0,5	6,2 \pm 0,9	10,6 \pm 1,6	4,4 \pm 0,7°*
АЧТВ, с	16,02 \pm 1,01	17,1 \pm 0,6	18,6 \pm 0,7	14,5 \pm 0,4°*
ТВ, с	15 \pm 0,6	18 \pm 1,3	40,3 \pm 1,7	27 \pm 1,3
ПТВ, с	18,7 \pm 0,2	20,5 \pm 0,4	20,6 \pm 0,4	17,8 \pm 0,5°*
АТ-III, %	81,8 \pm 0,8	76,3 \pm 1,4*	93,6 \pm 4,8	72 \pm 1,4°*
РФМК, мг%	6,7 \pm 0,3	13,3 \pm 0,3	4,7 \pm 0,6*	7,7 \pm 0,5°
ТБК-АП, мкмоль/л	0,5 \pm 0,2	0,9 \pm 0,1	1,08 \pm 0,2	1,02 \pm 0,1

Примечания: К – контрольная группа; О – опытная группа на фоне медвежьего жира; КИ – группа животных, не получавшая с рационом медвежий жир, забор крови производился после окклюзии магистрального сосуда; ОИ – группа животных, получавшая с рационом медвежий жир, забор крови производился после окклюзии магистрального сосуда; знаком * отмечены достоверно отличающиеся показатели ($p < 0,05$) между столбцами 3 и 2, 4 и 2, 5 и 3, знаком ° – между столбцами 5 и 3.

Чего нельзя сказать о группе контрольных животных. В результате обратимого ишемического воздействия в плазме крови животных, не принимающих с рационом медвежий жир, произошло значительное увеличение ТБК – АП, что, вероятно, явилось следствием активации свободнорадикальных процессов в ответ на последующую реоксигенацию сосудистой стенки. Данное обстоятельство усугубило или инициировало процессы, происходящие в системе гемостаза в ответ на ишемическое повреждение. Со стороны тромбоцитарного гемостаза наблюдалась ярко выраженная тромбопения (содержание тромбоцитов увеличилось на 34 %), причем за счет активированных форм. Их количество увеличилось более чем в 2 раза. Состояние плазмокоагуляции характеризовалось значительным увеличением тромбинового времени (на 63 %), АЧТВ, ПТВ. Значительно возросла концентрации фибриногена (на 45 %), наблюдалась активация АТ-III. Все это может свидетельствовать о развивающемся состоянии гиперкоагуляции в плазме крови контрольных животных в ответ на ишемическое повреждение.

В плазме крови опытных животных наблюдавшаяся изначально более высокая концентрация ТБК – АП впоследствии после ишемического воздействия значительно не повышалась, что может свидетельствовать о более высокой активности антиоксидантной

системы у группы животных, получавших с рационом медвежий жир. Ограничение активации свободнорадикальных процессов в плазме крови данной группы животных отразилось и на показателях системы гемостаза: со стороны плазмокоагуляции наблюдалось уменьшение концентрации фибриногена в плазме опытных животных, следствием этого стало уменьшение тромбинового времени. Произошло незначительное уменьшение АЧТВ, ПТВ. Не изменилось общее содержание тромбоцитов, хотя наблюдалось уменьшение содержания дискоцитов на 21 % (в контроле на 40 %).

Таким образом, наблюдаемые изменения в свертывании крови и концентрации ТБК – АП в плазме крови экспериментальных животных указывают на способность данного препарата (медвежьего жира) ограничивать активацию свободнорадикальных процессов, повышать противосвертывающий потенциал плазмы крови и таким образом минимизировать последствия ишемического повреждения, поддерживать тканевые адаптационные механизмы защиты.

Список литературы

1. Балуда В. П., Баркаган З. С., Гольдберг Е. Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980. – 310 с.
2. Барбараш О. Л., Кашталап В. В., Каретникова В. Н. и др. Клиническая значимость показателей эндотелиальной дисфункции, оксидативного стресса и гемостаза у больных инфарктом миокарда // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2007. – № 2. – С. 28-33.
3. Бышевский А. Ш., Умутбаева М. К., Алборов Р. Г. Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов. М.: Медицинская книга, 2004. – 80 с.
4. Лутай М. И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез // Укр. кардиол. журн. – 2004. – № 1. – С. 22-34.
5. Полякова А. П., Блинов М. Н., Каргин В. Д., Капустин С. И. Молекулярные механизмы эндотелиальной дисфункции при венозном тромбозе: современные представления и перспективы дальнейшего изучения // Трансфузиология. – Т. 12. – 2011. – С. 1250-1262.
6. Шитикова А. С. Тромбоцитарный гемостаз. – СПб., 2000. – 225 с.
7. Ющук Е. Н., Васюк Ю. А., Хадзегова А. Б. и др. Эндотелиальная дисфункция при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и методы ее коррекции // Клин. фармакол. и терапия. – 2005. – Т. 14, № 3. – С. 85-88.
8. Bult, H., Voeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Jordaens, F. H., van Maerke, Y. M., and Herman, A. G (1990) Nature., 345, 346–347.

9. Cosentino F., Patton S., d'Uscio L.V. et al. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 191. – P. 1530-1537.
10. Laroia S.T. Endothelium and the lipid metabolism: the current understanding / S. T. Laroia, A. K. Ganti, A. T. Laroia e.a. // Int. J. Cardiol. – 2003. – 88. – P. 1-9.

Рецензенты:

Соловьев В. С., д.м.н., профессор, зав. кафедрой анатомии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет», г. Тюмень.

Гудков А. Б., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гигиены и медицинской экологии Северного государственного медицинского университета, г. Архангельск.