

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ «МЕДВЕЖИЙ ЖИР» И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Калашникова С.П.¹, Третьяков Н.Ю.², Соловьев В.Г.¹, Гагаро М.А.¹

¹БУ ВО ХМАО – Югры «Ханты-мансийская государственная медицинская академия», г. Ханты-Мансийск, Россия (628011, Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40) e-mail: sp-81@mail.ru

²ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет», г. Тюмень, Россия (625003 г. Тюмень, ул. Перекопская, 15).

Изучен жирнокислотный состав биологически активной добавки «Медвежий жир» и его влияние на систему свертывания крови в условиях физиологической нормы. Методом газожидкостной хроматографии выявлено высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот: линолевой, линоленовой, эйкозапентаеновой. Отмечено в исследуемом образце оптимальное соотношение насыщенных и полиненасыщенных ω -3 и ω -6 жирных кислот. Так, суммарное содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот по отношению к полиненасыщенным в жире составило 1,4. Соотношение ω -6 ПНЖК и ω -3 ПНЖК составило 8,2. В экспериментальных условиях изучено влияние медвежьего жира на плазменное и сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза в условиях физиологической нормы. Показано, изначально увеличение антитромбинового потенциала. В целом, установлено, что данная биологически активная добавка, оказывает гипокоегулемическое (в пределах физиологических границ) действие и ослабляет активацию тромбоцитов.

Ключевые слова: ω -3 ПНЖК, ω -6 ПНЖК, биологически активная добавка «Медвежий жир», гипокоегулемическое воздействие, свертывание крови.

FATTY ACID COMPOSITION OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES "BEAR FAT" AND ITS EFFECT ON BLOOD CLOTTING IN THE EXPERIMENT.

Kalashnikova S.P.¹, Tretyakov N.Y.², Solovyov V.G.¹, Gagaro M.A.¹

¹BI HE 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.

²Federal STATE budgetary educational institution of higher professional education "Tyumen state University", Tyumen, Russia (625003, Tyumen, street Perekopskaya, 15).

Studied the fatty acid composition of biologically active additives "Bear fat" and its effect on the blood clotting system in the physiological norm. By gas chromatography revealed a high content of polyunsaturated fatty acids: linoleic, linolenic, eicosapentaenoic. Observed in the studied sample, the optimum ratio of saturated and polyunsaturated ω -3 and ω -6 fatty acids. So, the total content of saturated and monounsaturated fatty acids in relation to polyunsaturated fat was 1.4. The ratio of ω -6 polyunsaturated fatty acids and ω -3 PUFA was 8.2. In experimental conditions the influence of the bear fat on plasma and vascular-platelet hemostasis under conditions of physiological norm. Shows the initial increase antithrombin potential. In General, it was found that this dietary Supplement has gipokaliemicheskogo (within physiological limits) action and reduces platelet activation.

Keywords: ω -3 PUFA, ω -6 PUFA, biologically active additive «Bear fat», gipokaliemicheskogo impact, blood coagulation.

За последнее время накоплено много научных данных о роли жирных кислот в питании человека. Наиболее пристальное внимание уделяется полиненасыщенным жирным кислотам, как регуляторам множества физиологических и патологических процессов в организме человека [5,8].

Известно, что и насыщенные жирные кислоты и полиненасыщенные жирные кислоты участвуют в одних и тех же биохимических реакциях в организме и их поступление в равной мере необходимо для человека, однако результаты многочисленных исследований последних

лет показали, что важно не столько количественное содержание данных кислот в пище, сколько их молярное соотношение [6,10]. Большинство авторов отмечают, что в целом соотношение насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот должно быть примерно 3:1, а соотношение ω -6 ПНЖК к ω -3 ПНЖК 10:1, что является наиболее оптимальным для проявления их максимального положительного эффекта [4,7].

Предполагается, что изменение соотношения ω -3 ПНЖК и ω -6 ПНЖК в пище приводит к изменению синтеза различных групп эйкозаноидов, вызывая тем самым различные физиологические эффекты, в том числе и в системе свертывания крови [9].

Так, известно, что ω -6 жирные кислоты усиливают иммунный и воспалительный ответ организма, стимулируют свертывание крови и сужение кровеносных сосудов. ω -3 жирные кислоты вызывают более умеренную иммунную и воспалительную реакцию организма, препятствуют свертыванию крови и стимулируют расширение кровеносных сосудов [5,9]. Таким образом, оптимальный баланс насыщенных и полиненасыщенных ω -3 и ω -6 жирных кислот необходим, чтобы сбалансировать эти важные регуляторные функции организма.

Считается, что наиболее оптимальное соотношение насыщенных и ω -3 ПНЖК и ω -6 ПНЖК содержится в препаратах, полученные из морской рыбы, морских млекопитающих, водорослей [4]. Однако на сегодняшний день активно изучаются и другие отечественные и импортные препараты ПНЖК [3]. В последнее время особое внимание привлекают к себе биологически активные добавки к пище (БАД), среди них медвежий жир, барсучий жир и др., которые также являются эффективными источниками необходимых жирных кислот [2].

Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что данные препараты обладают широким спектром терапевтического действия, который включает антиоксидантную, антитоксическую, гепатопротекторную, иммуномодулирующую, противовоспалительную, антиконцерогенную и другие виды биологической активности. [3]. Показано, что экзогенное введение необходимого спектра жирных кислот с рационом, способствует снижению агрегации тромбоцитов, купированию гиперкоагуляции, вазодилататорному действию [5,9].

Цель исследования. В связи с этим представляется перспективным изучить жирнокислотный состав БАД «Медвежий жир» и его влияние на систему свертывания крови в условиях физиологической нормы.

Материалы и методы исследования. В исследованиях в качестве экспериментальных животных использовались самцы нелинейных белых крыс 3-4 - 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 БАД «Медвежий жир» (ООО «Багира», г. Оренбург) (далее 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 данного препарата. Дозы изучаемой субстанции для животных были адекватны рекомендуемым дозам для человека, не вызывающим токсических эффектов. Контрольные группы препарат дополнительно не получали.

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 [7].

Анализ содержания жирных кислот в медвежьем жире проводили методом газожидкостной хроматографии в виде метиловых эфиров на газожидкостном хроматографе «Кристалл-2000», снабжённом капиллярной колонкой с нанесённой жидкой фазой SE-30. Хроматографический анализ был проведен в центре коллективного пользования «Химический анализ и идентификации веществ» ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет».

Результаты исследований и обсуждение.

В результате проведения анализа содержания жирных кислот в БАД «Медвежий жир» методом газожидкостной хроматографии, был установлен следующий жирнокислотный состав изучаемого образца (табл. 1, табл. 2):

Таблица 1

Количественный состав исследуемого образца БАД «Медвежий жир»

Время, мин	Компонент	Группа	Площадь	Высота	Концентрация	Ед. концентрации	Семейство
18.519	C14-0	Насыщ.	301.118	71.733	0.490	% масс.	
21.028	C15-0	Насыщ.	46.613	10.087	0.076	% масс.	
22.089	C15-1	Мононенас.	149.660	8.661	0.244	% масс.	
23.527	C16-0	Насыщ.	7842.394	1589.954	12.764	% масс.	
24.201	C16-1	Мононенас.	544.088	123.119	0.886	% масс.	
25.849	C17-0	Насыщ.	178.382	35.987	0.290	% масс.	
26.535	C17-1	Мононенас.	151.180	26.905	0.246	% масс.	
28.592	C18-0	Насыщ.	3504.303	500.671	5.703	% масс.	
29.443	C18-1	Мононенас.	22085.512	2606.751	35.944	% масс.	
31.065	C18-2	Полиненас.	22091.845	2456.482	35.955	% масс.	ω-6
33.429	C18-3	Полиненас.	2694.696	338.279	4.386	% масс.	ω-3
35.771	C20-0	Насыщ.	106.112	10.368	0.173	% масс.	
36.904	C20-1	Мононенас.	276.329	23.302	0.450	% масс.	
47.351	C22-0	Насыщ.	219.535	13.017	0.357	% масс.	
66.763	C22-5	Полиненас.	73.648	2.193	0.120	% масс.	ω-3

Таблица 2

Групповой состав образца БАД «Медвежий жир» (в % масс.)

Группа	Площадь	Высота	Концентрация	Ед. концентрации	Кол-во компонентов
Мононенас.	23206.769	2788.738	37.769	% масс.	5
Насыщ.	12198.458	2231.816	19.853	% масс.	7
Полиненас.	24860.189	2796.954	40.460	% масс.	3

Как оказалось, соотношение составляющих компонентов жира более чем оптимально приближено к критериям максимальной биологической эффективности для жиров животного происхождения [4]. Суммарное содержание насыщенных (в наибольшем количестве представлены пальмитиновая и стеариновая кислоты) и мононенасыщенных (олеиновая) жирных кислот по отношению к полиненасыщенным (линолевая и линоленовая) в жире составило 1,4. Это связано с относительно высоким содержанием ПНЖК. Соотношение ω-6 ПНЖК и ω-3 ПНЖК составило 8,2.

Согласно вышесказанному, а именно, то, что, наиболее оптимальным соотношением жирных кислот является соотношение насыщенных+мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот в жире примерно 3:1, а соотношение ω-6 ПНЖК к ω-3 ПНЖК ~ 10:1 [4,5], то состав медвежьего жира наиболее приближен к эталонному составу.

Введение в рацион интактных животных медвежьего жира с целью изучения влияния данного жирнокислотного спектра на систему свертывания крови в условиях физиологической нормы, выявило следующее.

Как оказалось, введение жира лабораторным крысам в дозе 0,08 мл/100 г веса животного в течение 14 дней не оказало существенного влияния на систему свертывания крови (табл. 3). При этом более чем на треть, повысился уровень антитромбина-III.

Таблица 3

Состояние тромбоцитарного гемостаза и плазмокоагуляции после 14-дневного введения БАД «Медвежий жир» (по 14 крыс в группе), $M \pm m$

Исследуемые показатели	Без введения МЖ	На фоне введения МЖ
PLTm, $\times 10^9/\text{л}$	958 \pm 26	868 \pm 22*
Дискоциты, %	56,0 \pm 1,9	64,1 \pm 2,1*
Дискоциты, $\times 10^9/\text{л}$	536,5 \pm 14	556,4 \pm 15
АФ, %	44,0 \pm 2,9	36,2 \pm 3,1
АФ, $\times 10^9/\text{л}$	421,5 \pm 13	401,6 \pm 12
АОК, %	1,9 \pm 0,4	2,7 \pm 0,3
ОКАТ, %	90,6 \pm 3,3	59,7 \pm 2,3*
АЧТВ, с	21,3 \pm 1,4	18,8 \pm 2,4
ПТВ, с	28,4 \pm 1,3	30,4 \pm 1,6
ТВ, с	17,4 \pm 1,5	24,1 \pm 1,4*
РКМФ, мг%	5,2 \pm 0,3	4,6 \pm 0,1
ФГ, г/л	4,0 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1*
АТ-III, %	108,8 \pm 13,8	162,8 \pm 9,8*

Примечание: PLTm – содержание тромбоцитов (микроскопия), АФ – активированные формы, АОК – клетки, вовлеченные в агрегаты, ОКАТ – общая коагуляционная активность тромбоцитов, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ПТВ – протромбиновое время, ТВ – тромбиновое время, АТ-III – антитромбин-III, ФГ – фибриноген, РКМФ – растворимые комплексы мономерного фибрина. Знаком * отмечены достоверно отличающиеся показатели ($p < 0,05$) по сравнению с интактным контролем.

Изначальное увеличение антитромбинового потенциала, несомненно, следует расценивать как благоприятный признак, связанный не только с уменьшением интенсивности тромбогенеза (об этом свидетельствуют незначительные отклонения содержания РКМФ), но и с возрастанием возможности противостоять нарастающим концентрациям тромбина в случае потенциальной активации свертывания крови.

Поскольку введение медвежьего жира привело к увеличению содержания дискоцитов и уменьшению числа активированных форм тромбоцитов, это также косвенно свидетельствует и об ограничении реакций образования тромбина.

Таким образом, дополнительное введение в пищевой рацион биологически активной добавки «Медвежий жир» может служить необходимым источником оптимального соотношения насыщенных и полиненасыщенных (семейства ω -6 и ω -3 ПНЖК), которое не оказывает специфического воздействия на параметры гемостаза в условиях нормокоагуляции, но способствует повышению противосвертывающего потенциала плазмы крови. Все это, по нашему мнению, раскрывает перспективы более детального изучения механизма влияния медвежьего жира на систему гемостаза.

Список литературы

1. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Томск, 1980, 310 с.

2. Барсучий и медвежий жир // Справочник охотника. М.: ВАО, Издательский дом «Гамма», Лада ИКТЦ, 2003. – С. 76 – 79.
3. Васьковский В.Е., Горбач Т.А., Есипов А.В. Препараты омега-3 жирных кислот и их применение в медицине // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – №2. – С. 15-19.
4. Кривошапко О.А., Попов А.М. Лечебные и профилактические свойства липидов и антиоксидантов, выделенных из морских гидробионтов // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80. - № 2. – С. 4-8.
5. Титов, В.Н. Синтез насыщенных, моноеновых, ненасыщенных и полиеновых жирных кислот в филогенезе. Эволюционные аспекты атеросклероза [Текст] / В. Н. Титов // Успехи современной биологии. – 2012. – Т. 132, № 2. – С. 181–199.
6. Торшин И.Ю., Громова О.А., Егорова Е.Ю., Рудаков К.В. Систематический анализ молекулярных механизмов воздействия омега-3 полиненасыщенных жирных кислот на аритмию // Кардиология. – 2011. - № 5. – С. 13-16.
7. Шитикова А.С. Тромбоцитарный гемостаз. СПб, 2000. 225 с.
8. Shilina N.M., Kurbatova E.M., Beketova N.A. et.al. Proceedings of 42nd Annual meeting of European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition. – Budapest, 2009. – P.64.
9. Simopoulos A.P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases // Expt. Biol. Med. - 2008. – Vol. 233. - № 6. – P. 674-688.
10. Wertz P.W. Essential fatty acids and dietary stress // Toxicol Ind Health. – 2009. - № 4,5. – P. 279-283.

Рецензенты:

Шаповалова Е.М., д.б.н., профессор кафедры аналитической и органической химии ГБОУ ВПО ТюмГМА Минздрава России, г. Тюмень;

Корчин В.И., д.б.н., профессор, профессор кафедры нормальной и патологической физиологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», г. Ханты-Мансийск.