

## ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАРСУЧЬЕГО И МЕДВЕЖЬЕГО ЖИРА В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ТРОМБОГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Калашникова С.П.<sup>1</sup>, Соловьев В.Г.<sup>1</sup>, Никулина Е.Г.<sup>1</sup>, Никонова Л.Г.<sup>1</sup>, Гагаро М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>БУ ВО «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, e-mail: kalashnikovas81@mail.ru

Изучен процесс свертывания крови в рамках проведения эксперимента по моделированию выброса эндогенного тромбина. Животные дополнительно с пищей получали биологически активные добавки «Барсучий жир», «Медвежий жир». Лабораторных животных подвергали комбинированному стрессу (гипотермия + физическая нагрузка). В организме крыс развивалась активация свертывания крови. Измеряли в плазме крови следующие показатели: количество тромбоцитов, концентрацию фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время, концентрацию антитромбина, растворимых фибринмономерных комплексов, общую коагуляционную активность тромбоцитов. Установлено, что комбинированный стресс у животных спровоцировал развитие эндогенной тромбинемии, что привело к активации тромбоцитов и выраженному потреблению факторов свертывания. В группе контрольных животных произошло увеличение общей коагуляционной активности тромбоцитов, удлинение клоттинговых тестов, уменьшение концентрации фибриногена, увеличение концентрации растворимых фибринмономерных комплексов на всех временных промежутках. В группе животных, получавших добавки, все показатели оставались в норме. В группе опытных животных изменения не выходили за рамки физиологических. Таким образом, показано, что введение барсучьего и медвежьего жира с пищей экспериментальным животным повышает устойчивость организма к острым воздействиям, в том числе в условиях эндогенной тромбинемии, путем снижения чувствительности организма к стрессовым факторам и уменьшения степени последствий тромбогеморрагических осложнений.

Ключевые слова: свертывание крови, тромбогеморрагические состояния, эндогенная тромбинемия, барсучий жир, медвежий жир.

## THE PROSPECT OF USING BADGER AND BEAR FAT IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF TROMBOHEMORRHAGIC COMPLICATIONS

Kalashnikova S.P.<sup>1</sup>, Solovyov V.G.<sup>1</sup>, Nikulina E.G.<sup>1</sup>, Nikonova L.G.<sup>1</sup>, Gagaro M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SBEI HPE of Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Ugra «Khanty-Mansiysk State Medical Academy», Khanty-Mansiysk, e-mail: kalashnikovas81@mail.ru

The process of blood coagulation was studied in the framework of the experiment on modeling the release of endogenous thrombin. Animals additionally with food received biologically active additives "Badger fat", "Bear fat". Laboratory animals were subjected to combined stress (hypothermia + physical exercise). In the body of rats, the activation of blood coagulation developed. The following parameters were measured in blood plasma: platelet count, fibrinogen concentration, activated partial thromboplastin time, prothrombin time, thrombin time, antithrombin concentration, soluble fibrin monomer complexes, total platelet coagulation activity. It was found that combined stress in animals provoked the development of endogenous thrombinemia, which led to the activation of platelets and the expressed consumption of clotting factors. In the control group, there was an increase in the total coagulation activity of platelets, lengthening of the clotting tests, a decrease in the fibrinogen concentration, an increase in the concentration of soluble fibrin monomer complexes at all time intervals. In the group of animals receiving supplements, all indicators remained normal. Thus, it is shown that the introduction of badger and bear fat with food to experimental animals, increases the body's resistance to acute effects, including under conditions of endogenous thrombinemia, by reduce the sensitivity of the body to stress factors and reduce the degree of consequences of thrombohemorrhagic complications.

Keywords: blood coagulation, thrombohemorrhagic conditions, endogenous thrombinemia, badger fat, bear fat.

На сегодняшний день активно ведется поиск средств неспецифической защиты от свободнорадикальных процессов, которые, как известно, могут являться причиной развития серьезных патологических процессов в организме, в том числе сопровождающихся

тромбогеморрагическими осложнениями [1]. В этом отношении все большее значение в медицинской практике приобретают препараты и биологически активные добавки животного происхождения, оказывающие мощный антиоксидантный эффект [2-4]. Показано, что весьма перспективными в этом отношении являются средства, получаемые из жиров зимоспящих животных [5]. Чаще всего эти препараты используются как источники полиненасыщенных жирных кислот и витаминов [6-8].

Известно, что время, когда животные подвержены гибернации – это необходимый способ адаптации к понижению температуры окружающей среды. Именно в этот период в организме животных происходят радикальные изменения показателей гомеостаза.

Показано, что в это время в организме животных может развиваться такое состояние, как гипероксигенация, а в связи с этим последующая активация свободнорадикальных процессов, мобилизация антиоксидантных систем, в том числе ферментных [9; 10]. Устойчивость же к активации свободнорадикальных процессов в этот период, как показывает ряд исследований [11; 12], им обеспечивает высокая активность антиоксидантных ферментов, большой запас в организме бурого жира, в котором преобладают ненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, олеиновая), а также витамины А, Е. Может быть, поэтому, именно благодаря этим свойствам животные жиры издревле использовали в отечественной и восточной народной медицине в лечении целого ряда заболеваний [13; 14].

В настоящее время имеются единичные научные подтверждения в области биохимического исследования и использования животных жиров в медицине. Чаще в этих работах данные субстанции рассматриваются в качестве средств, усиливающих регенерацию покровных тканей. Однако, учитывая мощный антиоксидантный потенциал данных препаратов, можно предположить их позитивный эффект в лечении целого ряда других патологий, причиной развития которых является активация свободнорадикальных процессов, в том числе и в области нарушений свертывания крови.

**Цель исследования.** Изучить параметры первичного и вторичного гемостаза в условиях эндогенного выброса тромбина на фоне дополнительного приема с пищей природных микстов «Барсучий жир», «Медвежий жир» (ООО «Багира», Россия).

**Материалы и методы исследования.** В обеих сериях экспериментов использовались (в качестве экспериментальных животных) нелинейные белые крысы (вес 350-400 г, возраст 3-4 мес.). Количество крыс в каждой группе составляло 12 в серии с барсучьим жиром, 14 – в серии с медвежьим жиром.

Животные содержались на стандартном сбалансированном рационе с необходимым количеством органических веществ и минералов. Дополнительно в пищу животным

опытных групп добавляли природные миксты «Барсучий жир» (ООО «Багира», Россия), (далее барсучий жир), «Медвежий жир» (ООО «Багира», Россия), (далее медвежий жир). Введение крысам жиров осуществляли с помощью зонда 21 день (0,08 мл на 100 г веса животного), согласно инструкции по применению данных образцов. Дозы вводимых добавок для животных рассчитывались с учетом межвидового перерасчета доз на основе соотношений поверхности и массы тела животного. Контрольные животные жиры не получали.

Забор крови все последующие операции проводили под действием наркоза (этоксигетан). Яремную вену обнажали овальным разрезом и забирали образцы крови. Кровь для анализа забирали с 3,8% раствором цитрата натрия (1:9), для исследования тромбоцитарного гемостаза использовался забуференный раствор глутарового альдегида (0,125%). Все операции, начиная с забора крови, проводились согласно правилам, установленным для исследований, связанных с исследованием свертывания крови [15].

Оценку плазменного гемостаза (АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПТВ – протромбиновое время; ТВ – тромбиновое время; АТ–III – активность антитромбина–III; ФГ – содержание фибриногена, содержание РФМК) проводили по наборам фирмы «Технология-стандарт» (г. Барнаул) на коагулографе «Реалайт» (ООО «Дисксион», Россия). Концентрацию тромбоцитов (PLT) осуществляли с помощью световой микроскопии в камере Горяева по методу Шитиковой [15], а также на гематологическом анализаторе «Гемалайт» (ООО «Дисксион», Россия), общую коагуляционную активность тромбоцитов (ОКАТ) оценивали по изменению времени свертывания в плазме в тесте АВР (активированное время рекальцификации).

Состояние эндогенного выброса тромбина моделировали путем опробированной модели комбинированного стресса (гипотермия + физическая нагрузка): экспериментальных животных опускали в воду (+15 °С) на 30 минут, низкая температура воды заставляла их двигаться. Образцы крови забирали в следующие сроки: до воздействия, а также спустя 0,1, 1 и 3 ч после его окончания.

В опыте с барсучьим жиром активацию гемостаза моделировали с помощью острого холодового стресса: экспериментальных животных опускали в емкости с водой (+5 °С), затем подвергали экспозиции в окружающую среду (на 15 мин. при температуре -15 °С).

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 и обсуждение**

С целью достижения цели нашего исследования нами было проведено две серии экспериментов. Сначала нами было изучено состояние гемостаза на фоне введения барсучьего жира в условиях активации выброса эндогенного тромбина.

С целью выполнения задач исследования нами была выбрана экспериментальная модель, приводящая к выбросу в сосудистое русло основного фермента гемостаза – тромбина. Известно, что тромбин – это полифункциональный фермент, который регулирует не только активность свертывающей системы, но и противосвертывающей и фибринолитической. Являясь ключевым ферментом свертывания крови, тромбин обеспечивает активацию всех клеток крови, в частности тромбоцитов, одновременно активируя ферменты плазмокоагуляции и фибринолиза.

Оценка параметров гемостаза в норме и в условиях острого стресса выявила следующие результаты.

В плазме крови контрольных животных в ответ на стрессовое воздействие произошло резкое снижение количества тромбоцитов. Уменьшение количества тромбоцитов сразу после воздействия составило 15%, через 30 минут - 30%. В плазме крови животных, получавших дополнительно природный микст, почти не наблюдалось изменения концентрации тромбоцитов (табл. 1).

Таблица 1

Показатели свертывания крови у животных на фоне активации гемостаза

Показатели	Интактные животные	Контрольные животные (не получали БАД)		Животные (получали с рационом БАД)	
		После стресса	Через 30 мин.	После стресса	Через 30 мин.
PLT, $1 \times 10^9$ /л	315,4±6,83	269,2±19,71	217,8±26,02	319,5±16,6*	316±13,35*
ФГ, г/л	7,09±1,6	3,43±0,68	3,06±0,23	4,13±0,57	3,02±0,24
АЧТВ, с	27,92±0,54	18,55±0,22	18,72±1,41	29,01±0,42*	19,46±0,22
ПТВ, с	7,97±0,59	22,92±0,48	17,54±2,21	17,93±0,48*	23,67±0,51*
ТВ, с	51,57±0,51	44,23±1,25	43,93±1,79	29,6±2,35*	43,53±2,27
АТ-III, %	95,62±1,7	95,47±3,68	91,32±1,83	98,26±1,34	107,6±0,4*
ОКАТ, %	18,5±1,93	28,2±2,42	15,52±0,44	14,34±1,31*	21,04±1,67*
РФМК, мг%	5,87±0,2	9,62±0,79	19±0,76	10,62±0,83	16,5±0,82

Примечание: PLT – количество тромбоцитов; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ПТВ – протромбиновое время, ТВ – тромбиновое время, ФГ – содержание фибриногена, АТ-III – активность антитромбина-III, ОКАТ – общая коагуляционная активность тромбоцитов, РФМК – растворимые фибринмономерные комплексы. Знаком \* отмечены достоверно отличающиеся показатели ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями контрольной группы животных.

В плазме крови контрольных животных произошла активация гемостаза: наблюдается рост общей коагуляционной активности тромбоцитов (на 51%) (табл. 1). В группах опытных животных изменения со стороны тромбоцитарного гемостаза не выходили за рамки

физиологических.

Таким образом, у животных, получавших дополнительно жир, наблюдается снижение потребления тромбоцитов и ослабление их общей коагуляционной активности, что свидетельствует о более адекватной реакции в условиях стрессового воздействия.

Оценка параметров плазменного гемостаза показала, что у животных контрольной группы стресс-воздействие вызвало выраженные изменения, характерные для переходной фазы ДВС, а именно – рассогласование показателей клоттинговых тестов: уменьшение активированного частичного тромбопластинового времени (на 33%), удлинение протромбинового времени (в 3 раза), увеличение активированного времени рекальцификации (на 18%), уменьшение концентрации фибриногена (в 2 раза). Об активации тромбогенеза свидетельствует и рост содержания РФМК на протяжении всего эксперимента (табл. 1).

В группах опытных животных происходили похожие изменения, но анализируемые показатели по свертыванию крови были почти аналогичны показателям животных, не подвергнутых стрессовому воздействию.

Воспроизведение апробированной модели комбинированного стресса (эндогенная тромбинемия) в группах животных, получавших с пищей медвежий жир, показало следующее.

Экспериментальная модель (комбинированный стресс) была подобрана таким образом, чтобы животные испытывали повышенную нагрузку, в частности физическую (животные, попав в воду, вынуждены были держаться на плаву) и, в связи с тем что температура воды составила всего лишь + 15 °С – гипотермическую. Известно, что стрессовые реакции такого типа вызывают у животных ускорение свертывания, вплоть до развития диссеминированного свертывания крови.

В результате эксперимента мы получили следующие данные: уже через 0,1 ч после стресса у животных контрольной группы развивалось состояние гиперкоагуляции. Наблюдалось резкое укорочение активированного частичного тромбопластинового времени (на 24,9%) и протромбинового времени (на 16,8%) и удлинение тромбинового времени. Существенно выросла концентрация растворимых фибринмономерных комплексов, произошло значительное потребление фибриногена. Закономерно увеличилась активность антитромбина-III (на 52,8%) (табл. 2).

Через час после стрессового воздействия наблюдалась глубокая гипокоагулемия (судя по результатам клоттинговых тестов), также наблюдалось существенное потребление антитромбина-III (произошло уменьшение активности почти в 2,3 раза).

Таблица 2

Показатели свертывания крови у животных, получавших и не получавших биологически активную добавку «Медвежий жир» на фоне активации гемостаза

Исследуемые показатели	Сроки наблюдения в условиях комбинированного стресса			
	Без воздействия	0,1 ч	1 ч	3 ч
PLT, $\times 10^9/\text{л}$	958,2 $\pm$ 26,1	1067,7 $\pm$ 21,6*	1287,8 $\pm$ 28,0*	866,5 $\pm$ 23,9*
	868,6 $\pm$ 22,6 <sup>0</sup>	913,5 $\pm$ 25,4 <sup>0</sup>	862,6 $\pm$ 27,4 <sup>0</sup>	776,1 $\pm$ 23,3 <sup>0*</sup>
АЧТВ, с	20,9 $\pm$ 0,4	15,7 $\pm$ 0,5*	18,7 $\pm$ 0,3*	20,3 $\pm$ 0,3
	18,5 $\pm$ 0,5 <sup>0</sup>	17,4 $\pm$ 0,5 <sup>0</sup>	17,8 $\pm$ 0,4 <sup>0</sup>	18,7 $\pm$ 0,5 <sup>0</sup>
ПТВ, с	27,9 $\pm$ 0,3	23,2 $\pm$ 0,4*	14,7 $\pm$ 0,9*	29,6 $\pm$ 0,3*
	29,8 $\pm$ 0,6 <sup>0</sup>	22,3 $\pm$ 0,7*	13,2 $\pm$ 0,1*	28,1 $\pm$ 1,3
ТВ, с	19,1 $\pm$ 0,7	21,7 $\pm$ 1,0*	17,3 $\pm$ 0,7*	26,6 $\pm$ 0,6*
	23,6 $\pm$ 0,8 <sup>0</sup>	19,7 $\pm$ 1,8*	18,6 $\pm$ 0,9*	22,7 $\pm$ 0,4 <sup>0</sup>
ФГ, г/л	4,0 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,1*	5,9 $\pm$ 0,3*	5,1 $\pm$ 0,2*
	5,0 $\pm$ 0,1 <sup>0</sup>	4,6 $\pm$ 0,2* <sup>0</sup>	3,0 $\pm$ 0,1* <sup>0</sup>	4,1 $\pm$ 0,1* <sup>0</sup>
АТ-III, %	108,8 $\pm$ 13,8	172,2 $\pm$ 13,1*	76,3 $\pm$ 4,8*	113,5 $\pm$ 9,1
	260,4 $\pm$ 13,2 <sup>0</sup>	194,1 $\pm$ 10,8*	89,4 $\pm$ 9,4*	105,3 $\pm$ 16,8*
РКМФ, мг/%	5,2 $\pm$ 0,3	7,9 $\pm$ 0,5*	7,7 $\pm$ 0,1*	7,3 $\pm$ 0,1*
	4,6 $\pm$ 0,1 <sup>0</sup>	5,8 $\pm$ 0,1* <sup>0</sup>	6,3 $\pm$ 0,3* <sup>0</sup>	4,4 $\pm$ 0,1 <sup>0</sup>

Примечания: первая строка по каждому показателю – контрольная группа, нижняя – опытная. Знаком \* отмечены достоверно отличающиеся показатели ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями животных без воздействия, знаком <sup>0</sup> – по сравнению с показателями первой строки.

К окончанию эксперимента (к исходу 3 часа) оставался повышенным показатель тромбинового времени (на 39,3%), что может быть связано с высокой концентрацией в плазме крови продуктов фибринолитической системы. Сохранялась нормальная концентрация фибриногена и активность АТ-III.

Необходимо отметить, что активированное частичное тромбопластиновое время сразу через 0,1 ч резко укорачивалось почти на 25%, в отличие от показателей животных, получавших биологически активную добавку. Данное обстоятельство и отличия в содержании тромбоцитов, фибриногена и РКМФ в группе контрольных животных, позволяют рассматривать медвежий жир в аспекте его антистрессорного эффекта.

Таким образом, можно предполагать, что вещества, входящие в состав медвежьего жира, некоторым образом (что требует более тщательного изучения) ограничивают выброс в организме гормонов стрессорного ряда.

С целью подтверждения данного факта мы измерили концентрацию адреналина у животных контрольной и опытных групп.

Результаты выявили следующее: у контрольных животных к окончанию стрессового воздействия произошло сначала резкое потребление, а затем повышение концентрации адреналина в плазме крови.

У животных, получавших биологически активную добавку с пищей, концентрация

адреналина была значительно меньше, чем в контроле, и оставалась постоянной на протяжении всего эксперимента. Таким образом, можно предполагать, что животные опытной группы (получавшие с пищей медвежий жир), были более устойчивы к воздействию стрессорного фактора, чем животные контрольной группы. Что также отразилось и на состоянии гемостаза.

В группе опытных животных последствия комбинированного стресса со стороны сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза были менее выражены.

Анализируя показатели клоттинговых тестов, следует отметить, что активированное частичное тромбопластиновое время в этих группах не отличалось от показателей исходных цифр, также показатель тромбинового времени и содержание растворимых фибринмономерных комплексов были ниже, чем в группе контрольных животных, а к окончанию эксперимента даже вернулись к исходному значению (табл. 2).

В группе контрольных животных было установлено увеличение содержания тромбоцитов (уже к 1 ч на 34,3 %), причем с преобладанием активированных форм. Также в плазме крови наблюдалось образование больших и малых тромбоцитарных агрегатов.

Напротив, в группе животных, получавших с пищей данный природный микст, роста концентрации тромбоцитов не происходило (табл. 2). Наблюдалось также образование активированных форм, но их концентрация в ходе всего эксперимента оставалась постоянной, таким образом, часть тромбоцитов, вовлеченных в образование малых агрегатов, была постоянной.

### **Заключение**

Таким образом, дополнительное введение животным с пищей барсучьего и медвежьего жиров ограничивает последствия эндогенной тромбинемии со стороны тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, а также повышает противосвертывающий потенциал.

На основании этого можно предполагать, что изучаемые жиры при употреблении их в оптимальных дозах способны ограничивать последствия гиперкоагуляции путем ограничения активации как внешнего, так и внутреннего пути плазмокоагуляции, а учитывая то, что эти пути взаимно потенцируют друг друга, становится понятно насколько позитивным может быть эффект влияния данных биологически активных добавок на гемостаз в условиях острого стресса.

В связи с этим можно полагать, что при условии раскрытия более детального механизма влияния химических компонентов жиров животного происхождения на систему свертывания крови возникает реальная перспектива их использования в качестве эффективных средств профилактики тромбгеморрагических осложнений.

## Список литературы

1. Влияние полиненасыщенных жирных кислот  $\omega$ -3 на некоторые показатели антиоксидантного потенциала крыс / Л.В. Кравченко [и др.] // Вопросы питания. - 2013. – Т. 82, № 2. - С. 4-9.
2. Физиолого-биохимическая оценка обогащения рациона крыс докозагексаеновой кислотой и астаксантином / Ю.С. Сидорова [и др.] // Вопросы питания. - 2015. – Т. 84, № 5. - С. 46-55.
3. Жмурская О.А., Кеца О.В. Биохимические показатели гепатостеатоза и их коррекция  $\omega$ -3 полиненасыщенными жирными кислотами у крыс - опухоленосителей // Российский биотерапевтический журнал. - 2017. – Т. 16, № 1. - С. 36.
4. Rice M.E. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain. Trends Neurosci. 2000. V. 23. P. 209-216.
5. Насыбулина Н.М. Лечитесь жирами животного происхождения // Медицинская сестра. - 2012. - № 5. - С. 54-55.
6. Фисенков Н.Н. Эффективные лекарственные средства при лечении повреждений тканей // Международный вестник ветеринарии. - 2014. - № 3. - С. 40-44.
7. Шевченко А.А. Новый способ лечения трофических язв и длительно незаживающих ран нижних конечностей / А.А. Шевченко [и др.] // Вятский медицинский вестник. - 1999. - № 1. - С. 73-75.
8. Frerichs K.U. Local cerebral blood flow during hibernation, a model of natural tolerance to «cerebral ischemia» // J. Cereb. Blood. Flow Metab. 1994. Vol. 14. P. 193-205.
9. Абдуллаев В.Р., Ризванов И.Г. Перекисное окисление липидов в коре головного мозга сусликов в динамике зимней спячки // Успехи современной науки. - 2016. - Т. 5. - № 11. - С. 156-161.
10. Антиоксидантные ферменты у природно-адаптированных к дефициту кислорода млекопитающих / Е.П. Антонова [и др.] // Принципы экологии. – 2013. - № 1. - С. 21-32.
11. Чернилевский В.Е. Проблемы гипобиоза и продления жизни // Сборник МОИП. Секция геронтологии. - 2008. - № 41. - С. 105-123.
12. Hermes-Lima M., Zenteno-Savin T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress // Comp. Biochem. Physiol. 2002. Vol. 133. P. 537-556.
13. Ермакова Е.Е Народная медицина ижемцев Нижнего Приобья // Вестник Тюменского государственного университета. Гуманитарные исследования. - 2009. - № 7. - С. 173-180.
14. Нанзатов Б.З., Содномпилова М.М. Народно-бытовая медицина монгольских народов:

средства животного происхождения в представлениях и практиках // Известия Иркутского государственного университета. Сер.: Геоархеология. Этнология. Антропология. - 2016. - Т. 17. - С. 126-145.

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