Дата публикации: 01.03.2024
DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_01_1
УДК 665.334.7: [58.072+612.115.12]

Publication date: 01.03.2024
DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_01_1
UDC 665.334.7: [58.072+612.115.12]

ВЛИЯНИЕ МАСЛА ЧЕРНОГО ТМИНА НА РАЗЛИЧНЫЕ ЗВЕНЬЯ ГЕМОСТАЗА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭНДОГЕННОЙ ТРОМБИНЕМИИ

Х.М. Алхасова[1,2], А.В. Зиновьева[3], Т.Ю. Астахова[3], А.В. Нехорошева[2], С.В. Нехорошев[2], В.Г. Соловьев[2]

[1]Автономное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Центр Профессиональной Патологии», Центр лабораторной диагностики, г. Ханты-Мансийск, Россия
[2]Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», г. Ханты-Мансийск, Россия
[3]Бюджетное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Окружная клиническая больница», г. Ханты-Мансийск, Россия

Аннотация. Большинство естественных биологических процессов, протекающих в организме, связано с образованием свободных радикалов. Антиоксидантная активность терпеновых и фенольных соединений объясняется способностью поглощать свободные радикалы, отдавать атомы водорода, электроны или хелатные катионы металлов. Целью нашего исследования явилось изучение антиоксидантного потенциала масла черного тмина (МЧТ) и его влияние на коагуляционные свойства крови лабораторных крыс. В качестве экспериментальных животных в исследовании использовались 60 самцов неинбредных белых крыс, разделенные на 5 групп, каждая из которых включала по 12 особей: 1 группа (интактная), 2 контрольных (без дополнительных пищевых добавок, но подвергшихся стрессу) и 2 опытных, дополнительно получавших с пищей биологически активную добавку МЧТ в дозе по 1 мл на каждую особь ежедневно в течение 28 суток и также подвергшихся стрессу. Эндогенную тромбинемию воспроизводили, используя комбинированный (гипотермия + физическая нагрузка) стресс. Пробы крови отбирали сразу и спустя 60 минут после окончания стресс-воздействия. Кровь для коагулологических исследований стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, а также 0,1% забуференным раствором глутаральдегида (для исследования морфологии тромбоцитов). У животных определяли параметры коагуляционного гемостаза (ПТИ, АЧТВ, ТВ, ФГ, антитромбин III, Д-димер). Общее количество тромбоцитов и оценку морфофункционального состояния тромбоцитов изучали с помощью прямой микроскопии в камере Горяева. Помимо этого, определяли антиоксидантный потенциал МЧТ по содержанию малонового диальдегида. Дополнительное введение в пищевой рацион биологически активной добавки «Масло черного тмина Эфиопское» ослабил эндогенную индукцию тромбиногенеза, вызываемую комбинированным стресс-воздействием, что сопровождалось снижением прироста содержания активированных тромбоцитов, маркеров взаимодействия «тромбин-фибриноген» и развития вторичной гипокоагулемии.

Ключевые слова: *Nigella sativa,* черный тмин, масло черного тмина, тромбоциты, активные формы кислорода, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, гемостаз.

EFFECT OF BLACK CUMIN OIL ON DIFFERENT UNITS OF HEMOSTASIS IN RATS UNDER CONDITIONS OF ENDOGENOUS THROMBINEMIA

Kh.M. Alkhasova[1,2], A.V. Zinov'eva[3], T.Yu. Astakhova[3], A.V. Nekhorosheva[2], S.V. Nekhoroshev[2], V.G. Solov'ev[2]

[1]Occupational Pathology Center, Center for Laboratory Diagnostics, Khanty-Mansiysk, Russia
[2]Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk, Russia
[3]Okrug Clinical Hospital, Khanty-Mansiysk, Russia

Abstract. Most natural biological processes occurring in the body are associated with the free radicals formation. The antioxidant activity of terpene and phenolic compounds is explained by the ability to absorb free radicals, give hydrogen atoms, electrons or chelate metal cations. The purpose of our research was to study the antioxidant potential of black cumin oil (BCO) and its effect on the blood coagulation properties in laboratory rats. The study included 60 male non-

inbred white rats, divided into 5 groups, each of which included 12 rats: group 1 (intact), 2 control (without additional food supplements, but exposed to stress) and 2 experimental ones, which additionally received BCO in a dose of 1 ml for each rat daily for 28 days and were exposed to stress. Endogenous thrombinemia was reproduced using combined (hypothermia + physical exercise) stress. Blood samples were taken immediately and 60 minutes after the end of the stress test. Blood for coagulation studies was stabilized with a 3.8% sodium citrate solution in 1:9 ratio and with a 0.1% buffered glutaraldehyde solution (for studying platelet morphology). The coagulation hemostasis parameters (protrombin index, partial thromboplastin time, thrombin time, fibrinogen content, antithrombin III, D-dimer) were also identified. The total platelet count and assessment of the morphofunctional status of platelets were examined with direct microscopy in a Goryaev grid. In addition, the antioxidant potential of BCO was identified by the malondialdehyde content. Additional introduction of the "Ethiopian black cumin oil" supplement weakened the endogenous induction of thrombinogenesis caused by combined stress exposure, which was accompanied by a reduction in the increase in the content of activated platelets, markers of the thrombin-fibrinogen interaction and the development of secondary hypocoagulemia.

Keywords: *Nigella sativa,* black cumin, black cumin oil, platelets, reactive oxygen species, oxidative stress, lipid peroxidation, hemostasis.

Введение. Большинство естественных биологических процессов, протекающих в организме, такие как дыхание, пищеварение, детоксикация ксенобиотиков, а также превращение субстратов окисления в энергию, связано с образованием свободных радикалов. В низких и умеренных количествах активные формы кислорода (АФК) необходимы как для регулирования процессов, связанных с поддержанием гомеостаза, так и для широкого спектра клеточных функций [1-2], например для внутриклеточного разрушения бактерий фагоцитами, особенно гранулоцитами и макрофагами. Исследователи полагают, что свободные радикалы также участвуют в некоторых клеточных сигнальных процессах, известных как окислительно-восстановительная передача [1]. Избыточное образование АФК оказывает пагубное воздействие на организм человека и нейтрализуется естественной антиоксидантной системой. При снижении ее функционального потенциала свободные радикалы могут вызывать цепную реакцию, способную разрушать клеточные мембраны, блокировать действие ферментов жизнеобеспечения, блокировать выработку энергии и приводить к дисфункции клеточных процессов [3].

Важнейшими субстратами АФК являются полярные липиды – структурные компоненты клеточных мембран, где они участвуют в формировании проницаемого барьера клеток и субклеточных органелл в виде липидного бислоя. Давно признано, что высокие уровни свободных радикалов или АФК могут нанести прямой ущерб липидам, вызывая перекисное окисление липидов (ПОЛ). Общий процесс ПОЛ состоит из трех этапов: инициация, распространение и терминация [4-6].

Антиоксидантами (в биологических системах) называют вещества, способные эффективно ингибировать процессы свободнорадикального окисления в клетках. Выделяют ферментативные и неферментативные компоненты специфической антиоксидантной системы (АОС) в зависимости от характера воздействия. К ферментативным компонентам относятся: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза. Эти ферменты катализируют металлы переменной валентности и участвуют в разложении гидроперекисей нерадикальным путем. К неферментативным компонентам относятся высокомолекулярные (белковые) соединения: трансферрин, церулоплазмин и др.; низкомолекулярные соединения – ловушки радикалов: витамины А, С, Д, Е, К; селен; мочевая кислота, биофлавоноиды, терпеновые, фенольные соединения и др. [7]. Антиоксидантная

активность терпеновых и фенольных соединений объясняется способностью поглощать свободные радикалы, отдавать атомы водорода, электроны или хелатные катионы металлов. Молекулярная структура, особенно количество и положение гидроксильных групп, а также природа замещения в ароматических кольцах придают способность инактивировать свободные радикалы. Высокую антиоксидантную активность этим соединениям обеспечивают атомы водорода соседних гидроксильных групп, расположенных в различных положениях колец, двойных связей бензольного кольца некоторых флавоноидов [8].

В последние годы привлекли к себе пристальное внимание биоактивные молекулы растительного происхождения (витамины, минералы, биофлавоноиды), показавшие терапевтическую значимость как для профилактики, так и для лечения заболеваний, независимо от того, используются ли они целиком, в виде растительных экстрактов или изолированных компонентов с полным фитохимическим профилем. Было доказано, что ежедневное потребление широкого спектра фитохимических веществ является химиопрофилактическим. Это может быть перспективным для борьбы с рядом заболеваний, включая рак, диабет, сердечно-сосудистые заболевания и нейродегенеративные расстройства. Полифенолы представляют собой большой класс вторичных метаболитов растений, синтез которых обычно возможен только в этих организмах [9-10].

Одним из таких растений, обладающих мощным антиоксидантным и лекарственным потенциалом, является *Nigella sativa*, или черный тмин. *Nigella sativa* (черный тмин, чернушка посевная) – однолетнее травянистое растение, относящееся к семейству *Ranunculaceae* (лютиковых). Плоды – крупные удлинённые многолистовки, состоят из трёх-семи листовок, каждая из которых содержит многочисленные семена. Семена трёхгранные, морщинисто-бугорчатые [11], имеют насыщенный вкус и запах, применяются в традиционной кулинарии восточных стран как в качестве приправы, так и в народной медицине, что вполне обоснованно, учитывая разнообразный фитохимический состав и биологически активные свойства по имеющимся научным данным. Показано, что семена в своем составе содержат 5,02% влаги, 21,07% белка, 39,02% жира, 3,02% золы, 6,01% клетчатки и 25,86% углеводов. В порядке убывания по количественному соотношению обнаружены следующие минералы: кальций, калий, фосфор, магний, натрий, железо, цинк и медь. По составу частично заменимых, условно заменимых и незаменимых аминокислот также в порядке убывания количественного соотношения обнаружены: лейцин, валин, лизин, треонин, фенилаланин, метионин, гистидин, изолейцин, тирозин, цистеин. Из заменимых: глутаминовая кислота, аргинин, аспарагиновая кислота, глицин, пролин, серин, аланин. Из экстракта черного тмина было идентифицировано 31 летучее ароматическое соединение. Из них тимохинон (21,01%), о-цимен (18,23%), β-туйен (17,22%), цис-4-метокси туйен (7,04%), лонгифолен (6,43%), β-пинен (5,08%), D-лимонен (3,46%), (E)-лонгипинен (2,19%) и фенол, 2-метил-5-(1-метилэтил) (2,07%) были основными компонентами. По жирнокислотному составу было выявлено следующее соотношение: линолевая кислота (57,71%), олеиновая кислота (24,46%), пальмитиновая кислота (12,17%), эйкозадиеновая кислота (2,52%) и стеариновая кислота (2,31%). В следовых количествах были обнаружены арахидиновая (0,33%), γ-линоленовая (0,19%), миристиновая (0,19%), пальмитолеиновая (0,12%), α-линоленовая (0,12%) и миристолеиновая (0,02%) кислоты. Соотношение ненасыщенных и насыщенных ЖК составляло 85,16% и 15,02% соответственно. Содержание α-токоферола в масле семян черного тмина составляло 25,59 мг/100 г, β-токоферола – 14,21 мг/100 г,γ-токоферола – 242,83 мг/

100 г. Содержание полифенолов в черном семени составило 315,68 мг ГКЭ/кг масла. В разных литературных источниках перечисленные выше данные о количественном составе и соотношениях могут колебаться в незначительных количествах, причиной чему могут послужить сорт, климатические и географические условия исследуемого сырья черного тмина, а также реагенты, оборудование и методы исследования [12]. Также есть сведения об антиоксидантных свойствах *Nigella sativa,* что объясняется высоким содержанием фенольных соединений, витаминов и минералов [13-16].

Учитывая фитохимический состав и биологические свойства семян *Nigella sativa*, а также сведения о взаимном потенцировании процессов ПОЛ и гемостаза, целью нашего исследования явилось изучение антиоксидантного потенциала масла черного тмина и его влияние на коагуляционные свойства крови лабораторных крыс.

Методы и организация исследования. В качестве экспериментальных животных в исследовании использовались 60 самцов неинбредных белых крыс. Животные содержались на смешанном сбалансированном рационе с оптимальным соотношением белков, липидов и углеводов и были разделены на 5 групп, каждая из которых включала по 12 особей: 1 группа (интактная), 2 контрольных (без дополнительных пищевых добавок, но подвергшихся стрессу) и 2 опытных, дополнительно получавших с пищей биологически активную добавку «Масло черного тмина Эфиопское» (производитель «Живое масло») в дозе по 1 мл на каждую особь ежедневно в течение 28 суток и подвергшихся стрессу. Дозы изучаемой субстанции для животных были адекватными рекомендуемым дозам для человека, не вызывающими токсических эффектов.

Эндогенную тромбинемию воспроизводили, используя комбинированный (гипотермия + физическая нагрузка) стресс. Для этого животных помещали в емкости с водой при температуре воды +15°С на 30 минут, заставляя животных двигаться. Пробы крови отбирали сразу и спустя 60 минут после окончания стресс-воздействия [17].

Болезненные манипуляции проводили, подвергая животных наркозу диэтиловым эфиром. Яремные вены обнажали овальным разрезом, из которых в последующем осуществлялся забор крови. Кровь для коагулологических исследований стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, а также 0,1% забуференным раствором глутаральдегида (для исследования морфологии тромбоцитов).

У животных определяли параметры коагуляционного гемостаза (протромбиновый индекс (ПТИ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), содержание фибриногена (ФГ), антитромбина III, Д-димера) на коагулографе «Sysmex CS-2000i» (Ирландия). Общее количество тромбоцитов (ТЦ) и оценку морфофункционального состояния тромбоцитов изучали по содержанию дискоцитов и активированных форм (АФ) в абсолютных и относительных значениях с помощью прямой микроскопии в камере Горяева [18].

Содержание продуктов ПОЛ, а именно малонового диальдегида в реакции с тиобарбитуровой кислотой в плазме крови, определяли с помощью набора реагентов ТБК-Агат на фотометре КФК-3-01-«ЗОМЗ». ПОЛ приводит к образованию широкого спектра продуктов окисления. Основными первичными продуктами являются гидропероксиды липидов (LOOH). Среди множества различных альдегидов, которые могут образовываться в качестве вторичных продуктов при ПОЛ, выделяют малоновый диальдегид (МДА), пропаналь, гексаналь и 4-гидроксиноненаль (4-HNE). МДА является конечным продуктом, образующимся в результате разложения арахидоновой кислоты и более крупных ПНЖК посредством ферментативных или неферментативных процессов. МДА широко используется в течение многих лет в качестве удобного биомаркера перекисного окисления липидов жирных кислот омега-3 и омега-6 из-за

его легкой реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) и является одним из самых популярных и надежных маркеров, определяющих окислительный стресс в клинических ситуациях. Тест ТВА основан на реакционной способности ТБК по отношению к МДА с образованием интенсивно окрашенного хромогенного флуоресцентного красного продукта [19].

Результаты исследования, имеющие цифровое выражение, анализировали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений с использованием программы Microsoft Excel. Для оценки достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента (t) и степень вероятности (p). Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$. Содержание животных в виварии и проведение экспериментов соответствовали принципам «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Известно, что в патологических или стрессовых состояниях АФК подавляют антиоксидантные системы, что приводит к дисбалансу, который, в свою очередь, вызывает окислительный стресс и необратимые изменения в клеточных соединениях, включая белки, углеводы и липиды, а также способны нарушать нормальную передачу клеточных сигналов [10, 20, 21, 22]. Окислительный стресс играет немаловажную роль в активации системы гемостаза. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) клеточных мембран тромбоцитарных (Тц) клеток могут подвергаться перекисному окислению липидов (ПОЛ) как и другие клеточные структуры организма. Липопероксидация клеточных мембран Тц приводит к изменению процессов стационарного функционирования клеток, активации мембранных фосфолипаз, формированию матриц для запуска каскада ферментативных реакций гемостаза [23].

Следует отметить, что морфологическая структура Тц в покое и при активации несколько отличается. Так, в состоянии покоя Тц в фас имеют дискообразную форму и вид чечевицы, а в профиль – эллипсоидную и называются дискоцитами. При активации Тц в первую очередь происходит перестройка морфологической структуры тромбоцитарных клеток. Дискоциты принимают блинообразный или сферический вид, связанный с изменением общего объема и распластыванием на субстрате. Находясь на данном этапе, Тц могут обратимо менять свой внешний вид, превращаясь в дискоэхино-, сфероэхино- и сфероциты, объединенные общим термином «активированные формы». Следующим необратимым этапом в активации Тц является этап адгезии, где происходят высвобождение биохимических субстанций из гранул и появление псевдоподий (отростков), опосредованное внутриклеточной системой сократительных микрофиламентов. На данном этапе происходит образование первичных внутрисосудистых агрегатов.

В настоящем исследовании изучение морфологической структуры тромбоцитов после комбинированного стресса показало следующее.

Сразу после стресс-воздействия наблюдалось увеличение количества тромбоцитов в обеих группах, в контрольной – на 13%, а в опытной – на 11% по сравнению с интактной. Об активации клеточного звена гемостаза свидетельствовал и тот факт, что изменилось соотношение клеточных форм. Вместе с тем, относительное количество дискоцитов (неактивированных форм) в контроле уменьшилось на 16%, а в опытной группе – лишь на 7%, относительное количество активированных форм тромбоцитов возросло соответственно на 16% и 7% (табл. 1).

Через 1 ч после воздействия продолжали выявляться изменения реологических свойств крови: повышенное относительное содержание активированных форм Тц на фоне уменьшающего количества дискоцитов (табл. 2), но в опытной группе на фоне предварительного введения масла черного тмина это выражено в меньшей степени по сравнению с контрольной.

Помимо этого, в контрольной группе наблюдается увеличение агрегатов на 63% по сравнению с опытной, что говорит о происходящих необратимых изменениях в морфологической структуре тромбоцитарных клеток и о запуске каскада реакций, приводящих к активации гемостаза и внутрисосудистом свертывании крови.

Анализ состояния плазмокоагуляции показал, что сразу после воздействия у животных контрольной группы произошла существенная интенсификация тромбиногенеза, проявляющаяся ускорением непрерывно протекающего свертывания крови (табл. 3). В 5 раз выросла концентрация РКМФ и Д-димера, наблюдались удлинение тромбинового времени и снижение протромбинового индекса. Одновременно произошли потребление антитромбина-III и удлинение АЧТВ. Последнее, на наш взгляд, объясняется ускоренным потреблением факторов внутреннего пути активации протромбиназы в ответ на развивающуюся катехоламинемию. К 1-му часу эксперимента общая картина показателей в этой группе в целом сохранялась (табл. 4).

Таблица 1

Морфофункциональная и количественная характеристика тромбоцитов у крыс, получавших и не получавших масло черного тмина (МЧТ), непосредственно после комбинированного стресса (по 12 крыс в группе), M±m

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа (без МЧТ)	Опытная группа (с МЧТ)
ТЦ, 10^9/л	1111±19,8	1253±15,1*	1237±25,7*
Дискоциты, 10^9/л	885±22,3	799±18,1*	904±21,2^0
Дискоциты, %	80,2±1,2	64±2,5*	73±2,3*^{0}
АФ, 10^9/л	226±9,2	453±9,6*	333±7,3*^{0}
АФ, %	20±1,2	36±2,6*	27±2,8*^{0}
Агрегаты/Тц	1,6±0,2	3±0,3	4±0,8

Примечание: ТЦ – тромбоцитарные клетки; АФ – активированные формы; * – достоверные ($p<0,05$) отличия по сравнению со 2-ым столбцом; ^{0} – по сравнению с 3-им

Таблица 2

Морфофункциональная и количественная характеристика тромбоцитов у крыс, получавших и не получавших масло черного тмина (МЧТ), через 60 минут после комбинированного стресса (по 12 крыс в группе), M±m

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа (без МЧТ)	Опытная группа (с МЧТ)
ТЦ, 10^9/л	1111±19,8	1550±19,9*	1434±25,1*^{0}
Дискоциты, 10^9/л	885±22,3	738±13,7*	869±17,8^0
Дискоциты, %	80±0,8	48±2,2*	61±2,5*^{0}
АФ, 10^9/л	226±9,2	796±17,2*	565±12,5*^{0}
АФ, %	20±1,1	52±2,6*	39±3,1*^{0}
Агрегаты/Тц	1,6±0,2	8,1±0,9*	3,2±0,2*^{0}

Примечание: ТЦ – тромбоцитарные клетки; АФ – активированные формы; * – достоверные ($p<0,05$) отличия по сравнению со 2-ым столбцом; ^{0} – по сравнению с 3-им

Таблица 3

Состояние плазмокоагуляции у крыс, получавших и не получавших масло черного тмина (МЧТ), непосредственно после комбинированного стресса (по 12 крыс в группе), M±m

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа (без МЧТ)	Опытная группа (с МЧТ)
АЧТВ, с	18,2±1,8	29,9±0,9*	$21,3±0,3^0$
ПТИ, %	134,6±5,9	111,7±1,8*	$149,6±3,5*^0$
ТВ, с	37,2±0,5	44,7±2,7*	$34,7±0,7^0$
Антитромбин-III, %	139,7±6,3	121,6±3,3*	$130,5±4,5^0$
ФГ, г/л	2,6±0,1	2,8±0,2	2,6±0,1
РКМФ, мг/%	5,2±0,6	26,3±0,5*	$11,7±2,9*^0$
Д-димер, нг/мл	23,2±6,4	110,5±5,2*	$21,4±2,6^0$

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПТИ – протромбиновый индекс, ТВ – тромбиновое время; АТ-III – антитромбин-III; ФГ – фибриноген; РКМФ – растворимые комплексы мономерного фибрина; * – достоверные ($p<0,05$) отличия по сравнению со 2-ым столбцом; ^{0} – по сравнению с 3-им

Таблица 4

Состояние плазмокоагуляции у крыс, получавших и не получавших масло черного тмина (МЧТ), через 60 минут после комбинированного стресса (по 12 крыс в группе), M±m

Показатель	Интактная группа	Контрольная группа (без МЧТ)	Опытная группа (с МЧТ)
АЧТВ, с	18,2±1,8	26,6±2,9*	$21,4±0,5^0$
ПТИ, %	134,6±5,9	122,6±5,7	$149,9±4,0^0$
ТВ, с	37,2±0,5	40,3±1,7	38,7±0,7
Антитромбин-III, %	139,7±6,3	122,6±4,4*	$132,0±2,1^0$
ФГ, г/л	2,6±0,1	2,4±0,1	2,3±0,2
РКМФ, мг/%	5,2±0,6	23,6±1,2*	$7,0±1,9^0$
Д-димер, нг/мл	23,2±6,4	220,2±18*	$19,6±6,1^0$

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПТИ – протромбиновый индекс, ТВ – тромбиновое время; АТ-III – антитромбин-III; ФГ – фибриноген; РКМФ – растворимые комплексы мономерного фибрина; * – достоверные ($p<0,05$) отличия по сравнению со 2-ым столбцом; ^{0} – по сравнению с 3-им

У животных, предварительно получавших МЧТ, последствия стресс-воздействия были выражены в меньшей степени. В течение всего эксперимента уровни показателей ТВ и АЧТВ достоверно не отличались от таковых в интактной группе. На этом фоне практически не наблюдалась компенсаторная активация фибринолиза. Содержание РКМФ незначительно возросло лишь в 1 ч, однако не столь выраженно, как в контроле.

В отличие от контрольных животных, содержание антитромбина-III не подверглось достоверным колебаниям, т.е. эндогенная тромбинемия не привела к потреблению данного антикоагулянта, что свидетельствует (как и показатель РКМФ) о меньшей интенсификации тромбиногенеза.

Исследование нами антиоксидантного потенциала выявило межгрупповую разницу показателей. Как видно из таблицы 5, количество вторичных продуктов липопероксидации (МДА) в опытных группах крыс с дополнительным введением в их рацион МЧТ оказалось заметно ниже как непосредственно после комбинированного стресса (на 41%), так и через 60 мин (на 72%) по сравнению с контрольной группой, что говорит об антиоксидантном потенциале МЧТ.

Таблица 5

Содержание ТБКАП у крыс, получавших и не получавших масло черного тмина (МЧТ) после комбинированного стресса (по 12 крыс в группе), M±m

Время после стресс-воздействия	Интактная группа	Контрольная группа (без МЧТ)	Опытная группа (с МЧТ)
	Содержание ТБКАП (мкмоль/л)		
0 мин	0,101±0,004	0,233±0,003*	0,137±0,002*^{0}
60 мин	0,101±0,004	0,308±0,004*	0,087±0,002*^{0}

Примечание: ТБКАП – активные продукты тиобарбитуровой кислоты (МДА); * – достоверные ($p<0,05$) отличия по сравнению со 2-ым столбцом; ^{0} – по сравнению с 3-им

Заключение. Черный тмин благодаря своему составу является совокупным природным антиоксидантом, богатым витаминами и минералами, полифенолами, терпеновыми соединениями, дубильными веществами. Таким образом, дополнительное введение в пищевой рацион биологически активной добавки «Масло черного тмина Эфиопское» ослабляет эндогенную индукцию тромбиногенеза, вызываемую комбинированным стресс-воздействием, что сопровождается снижением прироста содержания активированных тромбоцитов, маркеров взаимодействия «тромбин-фибриноген» и развития вторичной гипокоагулемии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Finkel, T. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing / T. Finkel, N. J. Holbrook // Nature. – 2000. – Vol. 408. – № 6809. – P. 239-247. DOI: 10.1038/35041687.
2. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases / A. Bhattacharyya, R. Chattopadhyay, S. Mitra, S. E. Crowe // Physiol. Rev. – 2014. – Vol. 94. – P. 329-354. DOI: 10.1152/physrev.00040.2012.
3. Kurutas, E. B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state / E. B. Kurutas // Nutr. J. – 2015. – Vol. 15. – № 71.
4. Yin, H. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis / H. Yin, L. Xu, N. A. Porter // Chemical Reviews. – 2011. – Vol. 111. – № 10. – P. 5944-5972.
5. Girotti, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems / A. W. Girotti // Journal of Lipid Research. – 1998. – Vol. 39. – № 8. – P. 1529-1542.
6. Kanner, J. Initiation of lipid peroxidation in biological systems / J. Kanner, J. B. German, J. E. Kinsella // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 1987. – Vol. 25. – № 4. – P. 317-364.
7. Карбышев, М. С. Биохимия оксидативного стресса: учебно-методическое пособие / М. С. Карбышев, Ш. П. Абдуллаев. – ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва: Издательство ХХ, 2018. – 60 с. [In English] Karbyshev M.S., Abdullaev Sh.P. Biochemistry of oxidative stress: an educational manual. Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow: Publishing House XX, 2018. 60 p. (in Russ.)
8. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability / Minatel I. O., Borges C. V., Ferreira M. I. [et al] // Phenolic Compounds – Biological Activity. – United Kingdom, London, 2017. URL: https://www.intechopen.com/chapters/53128 (дата обращения: 16.12.23).
9. Mediterranean shrubs as potential antioxidant sources / Sanjust E., Mocci G., Zucca P., Rescigno A. // Nat. Prod. Res. – 2008. – Vol. 22. – P. 689-708. DOI: 10.1080/14786410801997125.
10. Antioxidants: positive or negative actors? / Salehi B., Martorell M., Arbiser J. L. [et al] // Biomolecules. – 2018. – Vol. 8. – № 4. – P. 124. DOI: 10.3390/biom8040124.
11. Прохоров, В. Н. Нигелла – ценная хозяйственно-полезная культура (обзор литературы) / В. Н. Прохоров // Овощи России. – 2021. – № 4. – С. 111-123. DOI: 10.18619/2072-9146-2021-4-

111-123. [In English] Prokhorov V.N. Nigella is a valuable economically useful crop (literature review). *Vegetable crops of Russia*, 2021, no. 4, pp. 111-123. DOI: 10.18619/2072-9146-2021-4-111-123. (in Russ.)

12. Nutritional Composition and Volatile Compounds of Black Cumin (Nigella sativa L.) Seed, Fatty Acid Composition and Tocopherols, Polyphenols, and Antioxidant Activity of Its Essential Oil / Albakry Z., Karrar E., Ahmed I. A. M. [et al] // Horticulturae. – 2022. – № 8. – P. 575. DOI: 10.3390/ horticulturae8070575.

13. Antioxidant Properties of Thymoquinone, Thymohydroquinone and Black Cumin (Nigella sativa L.) Seed Oil: Scavenging of Superoxide Radical Studied Using Cyclic Voltammetry, DFT and Single Crystal X-ray Diffraction / Sakib R., Caruso F., Aktar S. [et al] // Antioxidants. – 2023. – Vol. 12, № 3. – P. 607. 10.3390/antiox12030607.

14. The effect of dietary supplementation with Nigella sativa (black seeds) mediates immunelogical function in male Wistar rats / Mahmoud H. S., Almallah A. A., L-Hak H. N. G. E. [et al] // Sci. Rep. – 2021. – Vol. 11. – P. 7542. DOI: 10.1038/s41598-021-86721-1.

15. Effects of commonly used medicinal herbs in Jordan on erythrocyte oxidative stress oxidative / Y. Y. Bilto, N. G. Alabdallat, A. M. Atoom, N. A. Khalaf // J. Pharm. Pharmacogn. Res. – 2021. – Vol. 9. – P. 422-434.

16. Nigella sativa L. Phytochemistry and Pharmacological Activities: A Review (2019-2021) / Dalli M., Bekkouch O., Azizi S. E. [et al] // Biomolecules. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 20. DOI: 10.3390/biom12010020.

17. Никулина, Е. Г. Протективные эффекты природных цеолитов при тромбинемии (экспериментальное исследование): дис. ... канд. биол. наук / Елена Геннадьевна Никулина. – Челябинск, 2011. – 126 с. [In English] Nikulina E.G. Protective effects of natural zeolites in thrombinemia (an experimental study): an author's dissertation. Chelyabinsk, 2011. 126 p.

Шитикова, А. С. Тромбоцитарный гемостаз / А. С. Шитикова – СПб.: Изд-во СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2000. – 222 с. [In English] Shitikova A.S. Platelet hemostasis. Saint Petersburg: Publishing house of the Pavlov University, 2000. 222 p. (in Russ.)

18. Ayala, A. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdedialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal / A. Ayala, M. F. Muñoz, S. Argüelles // Oxid Med Cell Longev. – 2014. – № 2014. – P. 360438. DOI: 10.1155/2014/360438.

19. Oxidative stress and antioxidant defense / Birben E., Sahiner U. M., Sackesen C. [et al] // World Allergy Organ. J. – 2012. – Vol. 5. – P. 9-19.

20. In vitro and in vivo assessment of free radical scavenging and antioxidant activities of Veronica persica Poir. / Sharifi-Rad J., Sharifi-Rad M., Salehi B. [et al] // Cell. Mol. Biol. – 2018. – Vol. 64. – P. 57-64.

21. The combined effect of furosemide and propranolol on GSH homeostasis in ACHN renal cells / Zal F., Taheri R., Khademi F. [et al] // Toxicol. Mech. Methods. – 2014. – Vol. 24. – P. 412-416. DOI: 10.3109/15376516.2014.926437.

22. Коррекция функционального состояния тромбоцитов при эндотоксикозе / Власов А. П., Анаскин С. Г., Шевалаев Г. А. [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3-1. – С.37-40. [In English] Vlasov A.P., Anaskin S.G., Shevalaev G.A., Zelentsov P.V., Suvorova L.A., Satybaldin O.A. Correction of the functional state of platelets in endotoxemia. *Fundamental Research*, 2013, no. 3-1, pp. 37-40. (in Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ханна Майисовна Алхасова – биолог, Автономное учреждение ХМАО-Югры «Центр Профессиональной Патологии»; аспирант, Бюджетное учреждение ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, e-mail: gulerkhalum@mail.ru.

Альбина Валерьевна Зиновьева – кандидат биологических наук, заведующий клинико-иммунологической лабораторией, Бюджетное учреждение ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск, e-mail: zinch160290@mail.ru.

Татьяна Юрьевна Астахова – врач клинической лабораторной диагностики, Бюджетное учреждение Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск, e-mail: atu-samba@mail.ru.

Александра Викторовна Нехорошева – доктор технических наук, доцент, ВРИО ректора, Бюджетное учреждение ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, e-mail: av.nehorosheva@hmgma.ru.

Сергей Викторович Нехорошев – доктор технических наук, доцент, Бюджетное учреждение ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, e-mail: sv.nehoroshev@hmgma.ru.
Владимир Георгиевич Соловьев – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской и биологической химии, Бюджетное учреждение ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, e-mail: vg_solovev@mail.ru.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Khanna M. Alkhasova – Biologist, Center of Professional Pathology; Post-Graduate Student, Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk, e-mail: gulerkhalum@mail.ru.
Al'bina V. Zinov'eva – Candidate of Biological Sciences, Head of the Clinical Immunology Laboratory, Okrug Clinical Hospital, Khanty-Mansiysk, e-mail: zinch160290@mail.ru.
Tat'yana Yu. Astakhova – Clinical Pathologist, Okrug Clinical Hospital, Khanty-Mansiysk, e-mail: atusamba@mail.ru.
Aleksandra V. Nekhorosheva – Doctor of Technical Sciences, Associate Professor, Acting Rector, Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk, e-mail: av.nehorosheva@hmgma.ru.
Sergej V. Nekhoroshev – Doctor of Technical Sciences, Associate Professor, Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk, e-mail: sv.nehoroshev@hmgma.ru.
Vladimir G. Solov'ev – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Medical and Biological Chemistry, Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Khanty-Mansiysk, e-mail: vg_solovev@mail.ru.

Для цитирования: Влияние масла черного тмина на различные звенья гемостаза крыс в условиях эндогенной тромбинемии / Алхасова Х. М., Зиновьева А. В, Астахова Т. Ю. [и др.] // Современные вопросы биомедицины. – 2024. – Т. 8. – № 1. DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_01_1

For citation: Alkhasova H.M., Zinov'eva A.V., Astakhova T.Yu., Nekhorosheva A.V., Nekhoroshev S.V., Solov'ev V.G. Effect of black cumin oil on different hemostasis aspects in rats under conditions of endogenous thrombinemia. *Modern Issues of Biomedicine*, 2024, vol. 8, no. 1. DOI: 10.24412/2588-0500-2024_08_01_1