

УДК : [616-005.1-08:331.1]:615.22

Парахневич А.В.

(г. Курск)

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ И ГЕМОКОАГУЛЯЦИЯ У ПОРОСЯТ РАСТИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Аннотация. Возрастная динамика микрореологических свойства эритроцитов и гемокоагуляции у поросят растительного питания во многом обеспечивают необходимые для данного этапа онтогенеза жидкостные свойства крови и вследствие этого требующуюся для их роста и развития перфузию внутренних органов. У животных выявлено постепенное повышение цитоархитектонических изменений и усиление агрегации эритроцитов. Нарастание у поросят данного возраста активности факторов свертывания ведет к усилению процесса коагуляции по обоим путям реализации плазменного гемостаза. Это сочетается с повышением у животных функциональной активности противосвертывания и фибринолиза. Выраженность микрореологических свойств эритроцитов и высокая активность систем свертывания, противосвертывания и фибринолиза крови в фазу растительного питания позволяет животному полноценно адаптироваться к существующим условиям существования и подготовиться к воспроизводству потомства.

Ключевые слова: эритроциты, агрегация, цитоархитектоника, поросята, фаза растительного питания, свертывание крови, противосвертывание, фибринолиз.

A. Parakhnevich

(Kursk)

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES AND HEMOCOAGULATION OF PIGLETS ON VEGETABLE NUTRITION

Abstract. In many ways age dynamics of microrheological properties of erythrocytes and hemocoagulation of piglets on vegetable nutrition provide all the necessary liquid properties of blood for this phase of ontogeny. This provides the viscera perfusion required for their growth and development. The animals showed gradual increase of cytoarchitecture and the enhancing of erythrocyte aggregation. The intensification of coagulation factors activity, showed by piglets of this age, leads to the increased coagulation process on both paths of plasma hemostasis. This is accompanied with the increase of animals' functional activity of anticoagulation and fibrinolysis. Microrheological properties of erythrocytes and the manifestation of the high activity of coagulation, fibrinolysis and blood anticoagulation within the phase of vegetable nutrition allows an animal to adapt to the existing conditions of life and prepare for reproduction.

Key words: erythrocytes, aggregation, cytoarchitecture, piglets, the phase of vegetable nutrition, blood coagulation, anticoagulation, fibrinolysis.

Гемоциркуляция и гемостаз во многом определяют функциональную активность организма продуктивных животных, контролируя процессы тканевого обмена и реализации генетической программы [10, с. 86; 12, с. 31; 13, с. 33]. Микроциркуляция и гемокоагуляция на всех этапах развития животного во многом зависит от морфофункционального состояния и агрегационной активности эритроцитов, а также свертывания, противосвертывая и фибринолиза [4, с. 42; 5, с. 48]. Как и для всех продуктивных животных, для поросят очень важна возрастная динамика микрореологических свойств эритроцитов и гемокоагуляции, т. к. их адекватная активность обеспечивает необходимый приток кислорода и питательных веществ к тканям и наилучшее протекание всех биохимических процессов [8, с. 35; 11, с. 43]. Несмотря на научную и практическую важность оценки состояния цитоархитектоники и агрегации эритроцитов и механизмов гемокоагуляции у здоровых поросят в отдельные фазы онтогенеза, до сих пор они исследованы недостаточно.

В работе поэтому ставится цель: определить микрореологические особенности эритроцитов и коагуляционных свойств крови у здоровых поросят растительного питания раннего онтогенеза.

Материал и методы

Исследование выполнено на 46 здоровых поросятах породы крупная белая, обследованных на 41-е, 90-е, 150-е, 200-е и 230-е сутки жизни. У животных выявлялась активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы путем учитывания ацилгидроперекисей (АГП) [3, с. 33] и тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед». Определялась антиокислительная активность (АОА) жидкой части крови [2, с. 53].

Для оценки уровня в эритроцитах ПОЛ они подвергались отмыванию и ресуспендированию с последующей регистрацией концентрации АГП [3, с. 34] и малонового диальдегида (МДА) [9, с. 415]. При помощи набора «Витал Диагностикум» в эритроцитах поросят количественно выявлялся уровень холестерина (ХС). По содержанию в их мембранах фосфора определялось содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) [7, с. 206] с вычислением на основе полученных данных соотношения ОХС/ОФЛ. Активность внутриэритроцитарной системы антиокисления выявлялась по функциональным возможностям каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [14, с. 10].

Состояние цитоархитектоники эритроцитов поросят определялось в ходе световой фазовоконтрастной микроскопии при их типировании на дискоциты, дискоциты с одним выростом, дискоциты с гребнем, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде тутовой ягоды, куполообразные эритроциты (стоматоциты), сфероциты с гладкой поверхностью, сфероциты с шипиками на поверхности, эритроциты в виде «спущенного мяча», дегенеративные формы эритроцитов. Первые пять классов эритроцитов (с признаками эхиоцитарной трансформации) считались обратимо деформированными, остальные классы относили к необратимо деформированным формам [6, с. 38].

Используя полученные значения обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов рассчитывался ряд индексов [11, с. 44]:

Индекс трансформации (ИТ) = $(\text{ОД} + \text{НД}) / \text{Д}$, где Д – процент дискоцитов; ОД – процент обратимо деформированных эритроцитов; НД – процент необратимо деформированных эритроцитов.

Индекс обратимой трансформации (ИОТ) = $\text{ОД} / \text{Д}$,

Индекс необратимой трансформации (ИНОТ) = $\text{НД} / \text{Д}$,

Индекс обратимости (ИО) = $\text{ОД} / \text{НД}$.

Агрегация эритроцитов оценивалась в ходе световой микроскопии по величинам агрегированных и неагрегированных эритроцитов, а также количества эритроцитарных агрегатов во взвеси отмытых красных кровяных телец с последующим расчетом среднего размера агрегата (СРА) = $\text{СЭА} / \text{КА}$, где СЭА – сумма всех эритроцитов в агрегате; КА – количество агрегатов. Также высчитывался показатель агрегации (ПА) = $(\text{СРА} \times \text{КА} + \text{КСЭ}) / (\text{КА} + \text{КСЭ})$, где КСЭ – количество свободных эритроцитов и процент неагрегированных эритроцитов (ПНА) = $(\text{КСЭ} \times 100) / (\text{СРА} \times \text{КА} + \text{КСЭ})$ [11, с. 44].

У всех животных регистрировалась активность ряда факторов свертывания (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII), длительность активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового и тромбинового времени [1, с. 75], состояние противосвертывающей системы крови по функциональной способности антитромбина III (АТ-III) и протеина С в их плазме, а также фибринолитическая активность крови по времени спонтанного эуглобулинового лизиса и содержание в крови плазминогена [1, с. 142].

Математическая обработка полученных результатов проведена t-критерием Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В фазу растительного питания раннего онтогенеза у здоровых поросят выявлено постепенное усиление АОА плазмы (с $42,0 \pm 0,10\%$ в начале до $46,2 \pm 0,07\%$ в конце), определяющее понижение активности в ней ПОЛ. Так, количественное содержание в жидкой части крови первичных продуктов АГП составляло в начале фазы $1,20 \pm 0,12$ Д233/мл, в ее конце $-1,14 \pm 0,11$ Д233/мл, вторичных продуктов пероксидации липидов – ТБК-активных соединений $2,63 \pm 0,12$ мкмоль/л и $2,40 \pm 0,08$ мкмоль/л, соответственно.

При растительном питании в мембранах эритроцитов поросят нарастало содержание холестерина с $0,98 \pm 0,002$ мкмоль/1012 эр. до $1,16 \pm 0,006$ мкмоль/1012 эр. при понижении ОФЛ с $0,65 \pm 0,006$ мкмоль/1012эр. до $0,62 \pm 0,005$ мкмоль/1012эр.

Количество АГП в эритроцитах 41 – суточного животного составлял $2,53 \pm 0,08$ Д233/1012эр., постепенно уменьшаясь к 230 – суточно-му возрасту ($2,31 \pm 0,04$ Д233/1012эр.). Уровень МДА в их эритроцитах также понижался с $0,83 \pm 0,06$ нмоль/1012эр. до $0,76 \pm 0,05$ нмоль/1012 эр. Это сопровождалось у поросят растительного питания повышением активности ферментов антиоксидантной системы красных кровяных телец (активность каталазы составила в начале фазы $13720,0 \pm 22,4$ МЕ/1012эр. и $14600,0 \pm 20,3$ МЕ/1012эр. в ее конце, функциональные возможности СОД достигали $1930,2 \pm 7,45$ МЕ/1012эр. на 41-е сутки жизни и $2061,5 \pm 10,45$ МЕ/1012эр. на 230-е сутки, соответственно.

У животных отмечено постепенное снижение в крови количества дискоцитов до $80,2 \pm 0,08\%$, обеспечив к концу фазы повышение уровня ИТ до $0,25 \pm 0,005$ (табл.1). При этом у животных с 41 до 230 суток жизни отмечено повышение содержания в крови обратимо измененных эритроцитов до $12,8 \pm 0,05\%$ и их необратимо трансформированных форм до $7,0 \pm 0,09\%$. У поросят также выявлено увеличение в течение фазы растительного питания ИОТ до $0,16 \pm 0,004$ при достижении ИНОТ $0,09 \pm 0,009$ и ИО – $1,83 \pm 0,005$.

У наблюдаемых животных выявлено значимое нарастание агрегационной способности эритроцитов (см. табл.1) с увеличением уровня суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты (на $9,0\%$), повышение количества этих агрегатов в кровотоке (на $11,8\%$) при понижении на $10,7\%$ содержания в крови свободно перемещающихся эритроцитов при постоянстве СРА, легком нарастании ПА (до $1,14 \pm 0,09$) и невыраженном уменьшении ПНА (до $83,7 \pm 0,12$).

Таблица 1

**Микрореологические свойства эритроцитов
в раннем онтогенезе поросят растительного питания**

Параметры	Фаза растительного питания, n=46, M±m				
	41-е сут. жизни	90-е сут. жизни	150-е сут. жизни	200-е сут. жизни	230-е сут. жизни
Дискоциты, %	83,3±0,03	83,0±0,11	82,4±0,14 p<0,05	81,6±0,16 p<0,05	80,2±0,08 p<0,05
Обратно изм. эритроциты, %	10,8±0,02	11,0±0,06	11,6±0,09	12,3±0,07 p<0,05	12,8±0,05 p<0,05
Необратно изм. эритроциты, %	5,9±0,04	6,0±0,04	6,0±0,03	6,1±0,06	7,0±0,09 p<0,05
Индекс трансформации	0,20±0,007	0,20±0,005	0,21±0,003	0,23±0,006 p<0,05	0,25±0,005 p<0,05
Индекс обратимой трансформации	0,13±0,005	0,13±0,003	0,14±0,006	0,15±0,002	0,16±0,004
Индекс необратимой трансформации	0,07±0,004	0,07±0,002	0,07±0,006	0,07±0,008	0,09±0,009 p<0,05
Индекс обратимости	1,83±0,006	1,83±0,008	1,93±0,003 p<0,05	2,02±0,010 p<0,05	1,83±0,005 p<0,05
Сумма всех эритроцитов в агрегате	39,8±0,12	40,7±0,16 p<0,05	41,6±0,07 p<0,05	42,5±0,03 p<0,05	43,4±0,07 p<0,05
Количество агрегатов	9,3±0,12	9,5±0,06	9,8±0,08	10,0±0,07	10,4±0,04 p<0,05
Количество свободных эритроцитов	247,6±0,12	240,9±0,19	233,6±0,10 p<0,05	229,6±0,09 p<0,05	223,6±0,08 p<0,05
Показатель агрегации	1,12±0,05	1,13±0,08	1,13±0,06	1,14±0,04	1,14±0,09
Процент неагрегированных эритроцитов	86,1±0,18	85,5±0,14	85,0±0,09	84,2±0,10 p<0,05	83,7±0,12 p<0,05
Средний размер агрегата, клеток	4,3±0,05	4,3±0,03	4,2±0,06	4,3±0,08	4,2±0,05

Условные обозначения: p – достоверность возрастной динамики учитываемых показателей.

У поросят на протяжении фазы растительного питания раннего онтогенеза найдено постепенное увеличение активности всех определяемых факторов свертывания (табл. 2), достигающей максимума к концу наблюдения. Выявленное у наблюдаемых поросят состояние коагуляционных тестов явилось отражением активности у них отдельных факторов коагуляции на протяжении четвертой фазы раннего онтогенеза

(см. табл. 2). Так, длительность АПТВ начинала ускоряться уже к 41-м суткам жизни ($31,7 \pm 0,15$ с) и составляя к 230-м суткам жизни $29,0 \pm 0,13$ с. При этом протромбиновое время у включенных в исследование животных также испытывало ускорение, достигая к 230-м суткам жизни уровня $12,9 \pm 0,11$ с. Длительность тромбинового времени, отражающего интенсивность перехода фибриногена в фибрин, с 41-х по 230-е сутки

Таблица 2

Активность отдельных показателей свертывания, противосвертывания и фибринолиза у здоровых поросят растительного питания

Фактор свертывания	Фаза растительного питания, n=46, M±m				
	41-е сут. жизни	90-е сут. жизни	150-е сут. жизни	200-е сут. жизни	230-е сут. жизни
I, г/л	$2,7 \pm 0,05$	$2,9 \pm 0,08$	$3,2 \pm 0,10$	$3,6 \pm 0,06$ $p < 0,05$	$3,8 \pm 0,11$
II, %	$71,5 \pm 0,10$	$72,9 \pm 0,08$	$74,5 \pm 0,12$	$76,8 \pm 0,10$	$78,2 \pm 0,17$
V, %	$91,2 \pm 0,21$	$92,6 \pm 0,18$	$93,8 \pm 0,15$	$95,7 \pm 0,24$	$97,8 \pm 0,16$
VII, %	$77,5 \pm 0,09$	$78,6 \pm 0,12$	$79,9 \pm 0,14$	$80,2 \pm 0,09$	$82,4 \pm 0,15$
VIII, %	$106,1 \pm 0,26$	$108,5 \pm 0,22$	$110,2 \pm 0,19$	$113,0 \pm 0,17$	$115,7 \pm 0,08$
IX, %	$92,4 \pm 0,15$	$94,1 \pm 0,21$	$95,6 \pm 0,22$	$96,8 \pm 0,28$	$97,9 \pm 0,26$
X, %	$65,4 \pm 0,14$	$66,8 \pm 0,19$	$67,9 \pm 0,08$	$69,4 \pm 0,16$	$71,2 \pm 0,23$
XI, %	$96,2 \pm 0,11$	$97,8 \pm 0,15$	$99,6 \pm 0,26$	$102,1 \pm 0,19$	$104,7 \pm 0,13$
XII, %	$95,6 \pm 0,16$	$96,9 \pm 0,22$	$98,2 \pm 0,16$	$99,7 \pm 0,13$	$102,7 \pm 0,18$
АПТВ, с.	$31,7 \pm 0,15$	$31,2 \pm 0,16$	$30,5 \pm 0,20$	$29,6 \pm 0,16$	$29,0 \pm 0,13$
Протромбиновое время, с.	$14,0 \pm 0,09$	$13,8 \pm 0,12$	$13,5 \pm 0,07$	$13,2 \pm 0,08$	$12,9 \pm 0,11$
Тромбиновое время, с.	$14,8 \pm 0,19$	$14,5 \pm 0,11$	$14,3 \pm 0,08$	$14,1 \pm 0,05$	$13,6 \pm 0,04$
Активность АТ-III в плазме, %	$98,9 \pm 0,12$	$102,4 \pm 0,16$	$104,9 \pm 0,07$ $p < 0,05$	$107,0 \pm 0,12$	$111,4 \pm 0,28$
Протеин С, %	$60,8 \pm 0,21$	$61,3 \pm 0,14$	$61,9 \pm 0,25$	$62,6 \pm 0,13$	$64,2 \pm 0,27$
Время спонтанного зуглобулинового лизиса, мин.	$156,1 \pm 0,32$	$151,3 \pm 0,39$	$147,2 \pm 0,45$ $p < 0,05$	$143,4 \pm 0,27$ $p < 0,05$	$139,8 \pm 0,33$
Плазминоген, %	$135,0 \pm 0,17$	$138,5 \pm 0,26$	$140,6 \pm 0,34$ $p < 0,05$	$143,6 \pm 0,29$ $p < 0,05$	$148,6 \pm 0,44$ $p < 0,05$

жизни у поросят также достоверно ускорилось, достигнув к концу наблюдения $13,6 \pm 0,04$ с.

В крови наблюдаемых животных отмечено повышение уровня АТ-III до $111,4 \pm 0,28\%$. При этом найдено небольшое достоверное нарастание в течение срока наблюдения значений еще одного компонента системы антикоагуляции – протеина С (41-е сутки жизни $60,8 \pm 0,21\%$; 230-е сутки $64,2 \pm 0,27\%$).

В течение наблюдаемого периода в крови поросят отмечено значимое повышение активности плазминогена, обеспечивающее постепенное ускорение времени спонтанного эуглобулинового лизиса, являясь во многом маркером оптимальной адаптации гемостаза животных в фазу растительного питания к факторам внешней среды.

Таким образом, для поросят растительного питания характерно нарастание цитоархитектонических изменений и выраженности агрегации эритроцитов при усилении коагуляционных, противосвертывающих и фибринолитических механизмов плазмы.

Ход всего онтогенеза у продуктивных животных характеризуется закономерной динамикой микрореологических особенностей их форменных элементов, что во многом определяет общие реологические свойства крови [8, с.34; 12, с. 30]. Повышение у поросят растительного питания активности ферментов антиокисления эритроцитов способствует невысокой интенсивности ПОЛ, что в сочетании с повышением содержания в их мембранах ХС обеспечивает оптимальные микрореологические характеристики эритроцитов. Несомненно, это является физиологической основой поддержания в кровотоке у поросят необходимого для их онтогенеза уровня обратимо и необратимо измененных разновидностей эритроцитов при стойком превалировании их неизменных форм, обеспечивая наилучшие реологические свойства крови, достаточную перфузию внутренних органов и в связи с этим максимально возможную интенсивность процесса роста животного.

Постепенное усиление агрегации эритроцитов у поросят в течение фазы растительного питания раннего онтогенеза во многом связано с возрастным изменением заряда эритроцитов вследствие динамики на их поверхности числа отрицательно заряженных протеинов [11, с. 42] при увеличении в них количества ХС. Это неизбежно повышает силу сцепления данных белков эритроцитарной мембраны с глобулярными протеинами плазмы, выполняющими роль «мостиков» между отдельными красными кровяными тельцами в агрегатах.

Возрастная динамика микрореологических свойства эритроцитов у поросят растительного питания в раннем онтогенезе во многом обеспечивают необходимые для данного этапа онтогенеза жидкостные свойства крови и требующуюся для их роста и развития перфузии внутренних органов. Это помогает поддерживать необходимый для организма клеточный обмен, способствуя дальнейшему росту и развитию животного.

Найденная динамика системы свертывания во многом является следствием влияния на организм животного факторов внешней среды. Ускорение протромбинового времени, отражающего усиление механизмов инициации плазменного гемостаза по внешнему пути, обуславливалось повышением у поросят данного возраста интенсивности образования и активности запускающего процесс коагуляции тромбопластина [4, с. 41]. Рассматриваемые физиологические процессы во многом обеспечивают у поросят необходимый для заключительной фазы раннего онтогенеза уровень жидкостных свойств крови и выраженность перфузии внутренних органов, оптимальность метаболизма в тканях животного для его дальнейшего роста и развития. Выявленное ускорение АПТВ отражало повышение активности у животных внутреннего пути свертывания. Постепенное повышение активности **I и II факторов свертывания** неизбежно приводило к ускорению тромбинового времени, что являлось дополнительным физиологическим механизмом увеличения эффективности системы свертывания и поддержания всего гомеостаза организма поросенка.

Достаточно высокая активность системы противосвертывания, контролирующей выраженность фибринообразования, и системы фибринолиза, растворяющей излишки фибрина, во многом обеспечивается понижением активности ПОЛ, несмотря на нарастающее влияние факторов внешней среды. В течение фазы растительного питания активность ингибиторов коагуляции и фибринолитиков (АТ-III, протеин С и пламиноген) увеличивалась, что надо рассматривать как физиологическую реакцию приспособления организма животного, нуждающегося в период интенсивного роста в высокой их функциональной способности, обеспечивающей оптимальные условия микроциркуляции и гемодинамической адаптации в ходе онтогенеза [5, с. 48].

В раннем онтогенезе у здоровых поросят растительного питания при оптимальном липидном составе эритроцитов и невысокой активности в них перекисного окисления липидов развивается повышение агрегации

эритроцитов на фоне увеличения в их крови содержания обратимо и необратимо измененных эритроцитов с понижением количества дискоцитов. Для здоровых поросят растительного питания характерно постепенное нарастание функциональной активности коагуляционного гемостаза, сочетающееся с высокой функциональной активностью систем противосвертывания и фибринолиза, поддерживающее оптимальное состояние гемокоагуляции у данного вида сельскохозяйственных животных.

Литература:

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед-АО, 1999. – 224с.
2. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск: Изд-во Челябинского государственного педагогического университета, 2000. – 167с.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33-36.
4. Завалишина С.Ю. Противосвертывающая и фибринолитическая активность плазмы крови у телят // Ветеринария. – 2010. – № 11. – С. 41-43.
5. Завалишина С.Ю. Коагуляционная активность крови у телят растительного кормления // Ветеринария. – 2011. – № 4. – С. 48-49.
6. Козинец Г.И., Симоварт Ю.А. Поверхностная цитоархитектоника клеток периферической крови в норме и при заболеваниях системы клеток. – Таллин, 1984. – 116 с.
7. Колб В.Г., Камышиников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Изд-во Беларусь, 1982. – 367 с.
8. Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Тромбоцитарная активность гемостаза у поросят молочного питания // Ветеринарная практика. – 2011. – № 3(54). – С. 34-37.
9. Кубатиев А.А., Андреев А.А. Перекиси липидов и тромбоз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 5. – С. 414-417.
10. Медведев И.Н., Краснова Е.Г. Первичный гемостаз у новорожденных поросят. – М.: Издательство ООО «Силица Полиграф», 2008. – 150 с.
11. Медведев И.Н., Савченко А.П., Завалишина С.Ю. и др. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 42-45.
12. Медведев И.Н., Краснова Е.Г., Завалишина С.Ю. Тромбоцитарная активность у поросят в фазу молозивного и молочного питания // Ветеринарная практика. – 2011. № 4(55). – С. 30-33.
13. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю. Активность тромбоцитарного гемостаза у здоровых новорожденных телят // Доклады РАСХН. – 2011. – № 5. – С. 32-34.
14. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 9-13.