

УДК: [616-005.1-08:331.1]:615.22

Медведев И.Н., Парахневич А.В.

(г. Курск)

МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ И ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ПЛАЗМЫ У СУПОРОСНЫХ СВИНОМАТОК

Аннотация. Динамика микрореологических свойства эритроцитов и гемокоагуляции у свиноматок в течение супоросности во многом обеспечивают необходимые для протекания данного физиологического состояния жидкостные свойства крови и тем самым требующуюся для внутриутробного роста и развития поросят плацентарную перфузию. У животных выявлено постепенное понижение выраженности цитоархитектонических изменений и ослабление агрегации эритроцитов. Понижение активности факторов свертывания у свиноматок в течение супоросности ведет к ослаблению процесса коагуляции по обоим путям реализации плазменного гемостаза. Это сочетается с повышением у животных функциональной активности противосвертывания и фибринолиза. Невыраженность микрореологических свойств эритроцитов, невысокая активность системы свертывания и активация противосвертывания и фибринолиза крови у супоросных свиноматок позволяет им полноценно адаптироваться к условиям существования и выносить потомство.

Ключевые слова: супоросные свиноматки, эритроциты, агрегация, цитоархитектоника, свертывание крови, противосвертывание, фибринолиз.

I. Medvedev, A. Parahnevich

(Kursk)

MIKORHEOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES AND HEMOCOAGULATION PROPERTIES OF PREGNANT SOWS' PLASMA

Abstract. The dynamics of the microrheological properties of erythrocytes and hemocoagulation of sows during gestation in many ways provide the liquid properties of blood (necessary in this physiological state) required for fetal development, as well as for the placental perfusion necessary for the growth of piglets. The animals showed a gradual decrease of cytoarchitectural changes and weakening of aggregation of erythrocytes. The decrease of coagulation factors activity of sows' blood during the gestation leads to the weakening of the coagulation process on both ways of plasma hemostasis. This process is combined with the increase of functional activity of animals' blood anticoagulation and fibrinolysis. Ulterior microrheological properties of

red blood cells, low activity and activation of the coagulation system fibrinolysis and anticoagulation blood of pregnant sows enables them to adapt fully to the conditions of existence and to breed successfully.

Key words: pregnant sows, erythrocytes, aggregation, cytoarchitecture, anticoagulation, blood coagulation, fibrinolysis.

Передвижение крови по сосудам тесно связано с гемостазом и во многом определяет функциональную активность организма продуктивных животных. Их адекватность в значительной мере контролирует течение тканевого обмена и реализацию генетической программы [10, 86; 12, 31; 13, 33]. Процесс микроциркуляции и свертывания крови на всех этапах онтогенеза во многом зависит от агрегационной активности эритроцитов и функциональных возможностей систем свертывания, противосвертывая и фибринолиза [4, 42; 5, 48]. Как и всем видам продуктивных животных, свиньям присуща возрастная динамика микрореологических свойств эритроцитов и гемокоагуляции. При этом данные элементы гомеостаза приобретает особую значимость в ходе созревания и воспроизводства потомства [8, 35; 11, 43]. Вместе с тем, несмотря на большую научную и практическую важность изучения цитоархитектоники и агрегации эритроцитов и механизмов гемокоагуляции, у свиноматок в период супоросности они до сих пор остаются исследованы недостаточно.

В этой связи в настоящей работе поставлена цель: выяснить особенности микрореологических свойств эритроцитов и коагуляционных характеристик крови у здоровых свиноматок на протяжении супоросности.

Материал и методы

В исследование включены 41 здоровая свиноматка породы крупная белая, которые обследовались в день осеменения и на 20-е, 50-е, 80-е и 110-е сутки супоросности. У животных выявлялась активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы, учитывая в ней ацилгидроперекисей (АГП) [3, 33] и тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед». Определялась антиокислительная активность (АОА) жидкой части крови [2, 53].

При выявлении в эритроцитах животных уровня ПОЛ они подвергались отмыванию и ресуспендированию с последующей регистрацией в них концентрации АГП [3, 34] и малонового диальдегида (МДА) [9, 415]. При помощи набора «Витал Диагностикум» в эритроцитах сви-

номаток количественно выявлялся уровень холестерина (ХС). По содержанию в их мембранах фосфора определялось содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) [7, 206] с вычислением на основе полученных данных соотношения ОХС/ОФЛ. Активность внутриэритроцитарной системы антиокисления выявлялась по функциональным возможностям каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [14, 10].

Цитоархитектонические свойства эритроцитов свиноматок определялись 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 эхиноцитарной трансформации) считались обратимо деформированными, остальные классы относили к необратимо деформированным формам [6, 38].

Используя полученные значения обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов, рассчитывался ряд индексов [11, 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) = $\text{ОД} / \text{НД}$.

Состояние агрегации эритроцитов оценивалось световой микроскопией 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, 44].

У всех свиноматок 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, 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

содержанию в крови плазминогена [1, 142].

Полученные результаты обработаны с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В течение супоросности у здоровых свиноматок выявлено небольшое усиление АОА плазмы (с $45,8 \pm 0,15\%$ при осеменении до $46,9 \pm 0,24\%$ к 110-м суткам супоросности), определяющее понижение активности в ней ПОЛ. Так, количественное содержание в жидкой части крови первичных продуктов АГП составляло в начале наблюдения $1,18 \pm 0,05 D_{233}/\text{мл}$, в ее конце $-1,13 \pm 0,04 D_{233}/\text{мл}$, вторичных продуктов перекисидации липидов – ТБК-активных соединений $2,47 \pm 0,08$ мкмоль/л и $2,26 \pm 0,07$ мкмоль/л, соответственно.

В мембранах эритроцитов свиноматок в течение всей супоросности содержание холестерина оставалось неизменным – $1,09 \pm 0,003$ мкмоль/ 10^{12} эр. при осеменении и $1,09 \pm 0,002$ мкмоль/ 10^{12} эр. на 110-е сутки супоросности при легком повышении ОФЛ с $0,63 \pm 0,002$ мкмоль/ 10^{12} эр. до $0,65 \pm 0,003$ мкмоль/ 10^{12} эр.

Количество АГП в эритроцитах свиноматок при осеменении составляло $2,30 \pm 0,05 D_{233}/10^{12}$ эр., постепенно уменьшаясь к 110-м суткам супоросности ($2,10 \pm 0,04 D_{233}/10^{12}$ эр.). Уровень МДА в их эритроцитах также понижался с $0,76 \pm 0,03$ нмоль/ 10^{12} эр. до $0,64 \pm 0,07$ нмоль/ 10^{12} эр. Это сопровождалось у свиноматок повышением активности ферментов антиоксидантной системы красных кровяных телец (активность каталазы составила в начале наблюдения $14580,0 \pm 17,4$ МЕ/ 10^{12} эр. и $16150,0 \pm 19,2$ МЕ/ 10^{12} эр. – в конце супоросности, функциональные возможности СОД достигали $2024,1 \pm 9,02$ МЕ/ 10^{12} эр. при осеменении и $2360,6 \pm 9,38$ МЕ/ 10^{12} эр. на 110-е сутки супоросности, соответственно.

У свиноматок отмечено постепенное увеличение в крови количества дискоцитов до $80,4 \pm 0,05\%$, обеспечив к концу наблюдения уровень ИТ до $0,17 \pm 0,007$ (табл. 1). При этом у свиноматок в течение супоросности отмечено понижение содержания в крови обратимо измененных эритроцитов до $9,4 \pm 0,05\%$ и их необратимо трансформированных форм до $4,8 \pm 0,02\%$. У свиноматок также выявлено уменьшение в течение супоросности ИОТ до $0,11 \pm 0,003$ при достижении ИНОТ $0,06 \pm 0,005$ и ИО – $1,96 \pm 0,012$.

У супоросных свиноматок найдено значимое ослабление агрегационной способности эритроцитов (см. табл. 1) с понижением уровня суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты (на 11,9%), понижение

количества этих агрегатов в кровотоке (на 17,8%) при повышении на 9,1% содержания в крови свободно перемещающихся эритроцитов при незначительном повышении СРА, легком нарастании ПА (до $1,12 \pm 0,07$) и невыраженном увеличении ПНА (до $86,4 \pm 0,19$).

Таблица 1

Микрореологические свойства эритроцитов супоросных свиноматок

Параметры	Супоросность, n=41, M±m				
	осеменение	около 20 сут.	около 50 сут.	около 80 сут.	около 110 сут.
Дискоциты, %	80,4±0,05	81,6±0,06	82,4±0,10 p<0,05	83,5±0,07 p<0,05	85,8±0,12 p<0,05
Обратимо изм. эритроциты, %	13,5±0,04	12,6±0,04 p<0,05	12,1±0,08 p<0,05	11,3±0,03 p<0,05	9,4±0,05 p<0,01
Необратимо изм. эритроциты, %	6,1±0,02	5,8±0,06 p<0,05	5,5±0,03 p<0,05	5,2±0,05 p<0,05	4,8±0,02 p<0,05
Индекс трансформации	0,24±0,001	0,22±0,002 p<0,05	0,21±0,004	0,20±0,002	0,17±0,007 p<0,05
Индекс обратимой трансформации	0,17±0,004	0,15±0,007 p<0,05	0,15±0,006	0,14±0,004	0,11±0,003 p<0,01
Индекс необратимой трансформации	0,08±0,006	0,07±0,005	0,07±0,003	0,06±0,008	0,06±0,005
Индекс обратимости	2,21±0,003	2,17±0,004 p<0,05	2,20±0,006 p<0,05	2,17±0,007 p<0,05	1,96±0,012 p<0,01
Сумма всех эритроцитов в агрегате	43,2±0,14	42,8±0,12	41,5±0,09 p<0,05	40,3±0,05 p<0,05	38,6±0,06 p<0,05
Количество агрегатов	10,6±0,16	10,4±0,04	9,8±0,02 p<0,05	9,4±0,05 p<0,05	9,0±0,03 p<0,05
Количество свободных эритроцитов	225,8±0,10	228,6±0,12	232,8±0,09 p<0,05	239,5±0,07 p<0,05	246,4±0,06 p<0,05
Показатель агрегации	1,14±0,04	1,13±0,05 p<0,05	1,13±0,07	1,12±0,08 p<0,05	1,12±0,07
Процент не агрегированных эритроцитов	83,8±0,12	84,3±0,10	85,0±0,16	85,6±0,15	86,4±0,19
Средний размер агрегата, клеток	4,1±0,03	4,1±0,04	4,2±0,02	4,3±0,05	4,3±0,06

Условные обозначения: p – достоверность динамики учитываемых показателей.

У супоросных свиноматок найдено постепенное понижение активности всех определяемых факторов свертывания (табл. 2), достигающее минимума к концу наблюдения. Выявленное у наблюдаемых свиноматок состояние коагуляционных тестов явилось отражением активности у них отдельных факторов свертывания на протяжении супоросности (см. табл. 2). Так, длительность АПТВ начинала замедляться уже с 20-х суток супоросности ($30,8 \pm 0,04$ с) и составляла к 110-м суткам $33,6 \pm 0,11$ с. При этом протромбиновое время у включенных в исследование животных также испытывало торможение, достигая к 110-м суткам супоросности $16,1 \pm 0,12$ с. Длительность тромбинового времени, отражающего интенсивность перехода фибриногена в фибрин, с момента осеменения по 110-е сутки супоросности у свиноматок также достоверно увеличилось, достигнув к концу наблюдения $16,4 \pm 0,05$ с.

В крови наблюдаемых животных найдено повышение уровня АТ-III до $127,1 \pm 0,19\%$. При этом найдено небольшое нарастание в течение срока наблюдения значений еще одного компонента системы антикоагуляции – протеина С (при осеменении $64,2 \pm 0,14\%$; 110-е сутки супоросности $67,5 \pm 0,05\%$). В течение наблюдаемого периода в крови свиноматок отмечено значимое повышение активности плазминогена, обеспечивающее постепенное ускорение времени спонтанного эуглобулинового лизиса, что является во многом маркером оптимальной адаптации гемостаза животных в течение супоросности к факторам внешней среды.

Течение всего онтогенеза у продуктивных животных характеризуется закономерной динамикой микрореологических особенностей их форменных элементов, что во многом определяет общие реологические свойства крови [8, 34; 12, 30]. Повышение у супоросных свиноматок активности ферментов антиокисления эритроцитов способствует эффективному контролю над интенсивностью ПОЛ, что в сочетании со стабильностью содержания в их мембранах ХС обеспечивает оптимальные микрореологические характеристики эритроцитов. Несомненно, это является физиологической основой поддержания в кровотоке у свиноматок необходимого для их онтогенеза уровня обратимо и необратимо измененных разновидностей эритроцитов при стойком превалировании постепенно увеличивающегося количества их неизменных форм, обеспечивая наилучшие реологические свойства крови, достаточную перфузию внутренних органов и наиболее физиологически выгодные условия протекания супоросности.

Постепенное ослабление агрегации эритроцитов у свиноматок в течение супоросности во многом связано с физиологически обуслов-

Таблица 2

Активность отдельных показателей свертывания, противосвертывания и фибринолиза у здоровых супоросных свиноматок

Фактор свертывания	Супоросность, n=41, M±m				
	осеменение	около 20 сут.	около 50 сут.	около 80 сут.	около 110 сут.
I, г/л	3,7±0,06	3,5±0,07 p<0,05	3,2±0,13 p<0,05	2,8±0,07 p<0,05	2,5±0,04 p<0,05
II, %	78,4±0,12	78,0±0,05	76,3±0,14 p<0,05	74,1±0,06 p<0,05	72,0±0,12 p<0,05
V, %	97,5±0,22	96,3±0,19	94,5±0,16 p<0,05	92,3±0,20 p<0,05	90,1±0,17 p<0,05
VII, %	82,5±0,06	82,0±0,15	80,3±0,12 p<0,05	79,2±0,07 p<0,05	77,6±0,18 p<0,05
VIII, %	115,1±0,29	113,6±0,25	110,4±0,11 p<0,05	108,3±0,12 p<0,05	106,4±0,10 p<0,05
IX, %	97,8±0,12	97,1±0,23	95,8±0,14 p<0,05	94,4±0,05 p<0,05	93,0±0,07 p<0,05
X, %	71,4±0,13	71,0±0,14	70,3±0,09 p<0,05	69,5±0,03 p<0,05	68,3±0,05 p<0,05
XI, %	103,8±0,10	102,8±0,13	99,8±0,10 p<0,05	97,6±0,06 p<0,05	95,2±0,07 p<0,05
XII, %	102,6±0,17	101,3±0,11	99,6±0,08 p<0,05	97,5±0,06 p<0,05	96,0±0,04 p<0,05
АПТВ, с.	29,0±0,10	30,8±0,04 p<0,05	31,7±0,06 p<0,05	32,9±0,04 p<0,05	33,6±0,11 p<0,05
Протромбиновое время, с.	13,0±0,05	13,4±0,14	13,9±0,09	14,8±0,06 p<0,05	16,1±0,12 p<0,05
Тромбиновое время, с.	13,5±0,13	13,9±0,10	14,6±0,03 p<0,05	15,3±0,02 p<0,05	16,4±0,05 p<0,05
Активность АТ-III в плазме, %	111,2±0,16	116,5±0,10 p<0,05	119,4±0,04 p<0,05	123,6±0,10 p<0,05	127,1±0,19 p<0,05
Протеин С, %	64,2±0,14	64,5±0,23	64,9±0,20	65,9±0,05 p<0,05	67,5±0,05 p<0,05
Время спонтанного зуглобулинового лизиса, мин.	139,2±0,20	138,5±0,16	137,4±0,08 p<0,05	135,2±0,03 p<0,05	133,6±0,05 p<0,05
Плазминоген, %	148,2±0,19	149,8±0,20	152,8±0,32 p<0,05	156,6±0,23 p<0,05	169,5±0,46 p<0,05

ленным изменением заряда эритроцитов вследствие динамики на их поверхности отрицательно заряженных протеинов [11, 42]. Это неизбежно понижает силу сцепления данных белков эритроцитарной мембраны с глобулярными протеинами плазмы, выполняющими роль «мостиков» между отдельными красными кровяными тельцами в агрегатах.

Динамика микрореологических свойства эритроцитов у супоросных свиноматок во многом обеспечивают необходимые для данного состояния жидкостные свойства крови и тем самым требующуюся для внутриутробного роста и развития поросят перфузию внутренних органов.

Найденная динамика системы свертывания во многом является следствием влияния на организм свиноматок прогестерона [77, с.115]. Торможение протромбинового времени, отражающего усиление механизмов инициации плазменного гемостаза по внешнему пути, обуславливалось понижением у супоросных свиноматок интенсивности образования и активности запускающего процесс коагуляции тромбопластина [4, 41]. Рассматриваемые физиологические процессы во многом обеспечивают необходимый для беременности свиноматок уровень жидкостных свойств крови и выраженность перфузии матки и плаценты, оптимальность метаболизма в них для оптимального роста и развития эмбрионов, а затем плодов. Выявленное замедление АПТВ отражало невысокую активность у животных внутреннего пути свертывания. Постепенное снижение активности I и II факторов свертывания неизбежно приводило к удлинению тромбинового времени, что являлось дополнительным физиологическим механизмом увеличения эффективности системы свертывания и поддержания всего гомеостаза организма супоросных свиноматок.

Высокая активность системы противосвертывания, контролирующей выраженность фибринообразования и системы фибринолиза, растворяющей излишки фибрина, во многом обеспечивается у супоросных свиноматок понижением ПОЛ, несмотря на нарастающее влияние факторов внешней среды. В течение супоросности активность ингибиторов коагуляции и фибринолитиков (АТ-III, протеин С и плазминоген) увеличивалась, что стоит рассматривать как физиологическую реакцию приспособления организма свиноматки к вынашиванию потомства, которое во многом обеспечивается оптимальными условиями микроциркуляции и гемодинамической адаптации [5, 48].

Заключение

В течение супоросности у здоровых свиноматок при оптимальном липидном составе эритроцитов и невысокой активности в них перекисного окисления липидов развивается понижение агрегации эритроцитов на фоне уменьшения в их крови содержания обратимо и необратимо измененных эритроцитов с повышением количества дискоцитов. Для здоровых свиноматок в течение супоросности характерно постепенное ослабление функциональной активности коагуляционного гемостаза, сочетающееся с высокой функциональной способностью систем противосвертывания и фибринолиза, что поддерживает оптимальное состояние гемокоагуляции у данного вида сельскохозяйственных животных во время вынашивания потомства.

Литература:

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед-АО, 1999. – 224 с.
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. – 167 с.
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.: Изд-во ООО «Силища 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.