

АГРЕГАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ, ТРОМБОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ И СОСУДИСТЫЙ КОНТРОЛЬ НАД НИМИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Завалишина С.Ю., Белова Т.А., Медведев И.Н.

Курский институт социального образования (филиал) Российского государственного социального университета, Курск, Россия (305029, г. Курск, ул. К. Маркса, 53), e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Успешность гемоциркуляции, особенно в сосудах наименьшего калибра, во многом зависит от агрегации форменных элементов крови, выраженность которой находится под постоянным контролем со стороны сосудистой стенки. Цель – установить выраженность агрегационных свойств форменных элементов крови и антиагрегационного контроля сосудов над ними у телят в течение фазы новорожденности. Исследование выполнено на 32 новорожденных телятах черно-пестрой породы, обследованных за фазу новорожденности 5 раз. У новорожденных телят отмечена тенденция к повышению агрегации форменных элементов крови. Это сопровождалось у них тенденцией к усилению антиагрегационного контроля сосудистой стенки за счет усиления выработки в эндотелии оксида азота и простациклина. Найденные особенности агрегационных и дезагрегационных явлений в крови у новорожденных телят обеспечивают у них необходимые для данного этапа онтогенеза степень перфузии микроциркуляторного русла, внутренних органов и уровень метаболизма в тканях, способствуя дальнейшему росту и развитию животного.

Ключевые слова: фаза новорожденности, телята, сосудистая стенка, антиагрегация, форменные элементы крови.

AGGREGATION PROPERTIES OF RED BLOOD CELLS, PLATELETS AND WHITE BLOOD CELLS AND VASCULAR CONTROL OF NEWBORN CALVES

Zavalishina S.Y., Beliva T.A., Medvedev I.N.

Kursk Institute of social education (branch of the institute RSSU (Russian State Social University)), Kursk, Russia (305029, Kursk, street K.Marx, 53), e-mail: ilmedv1@yandex.ru

The success of haemocirculation, especially in the vessels of the smallest caliber largely depends on the aggregation of loose blood, the severity of which is under the constant supervision of the vascular wall. The purpose of – install the manifestation there properties of uniform blood and vascular control antiaggregation over them have calves during the phases after birth. A study performed on newborn calves 32 black-Motley breed surveyed for the newborn phase 5 times. Newborn calves are a trend of increasing aggregation of loose blood. This has been accompanied by a trend towards the strengthening of the control of the vascular wall antiaggregation by increasing the production of nitric oxide in endotelia and prostacyclin. Features found there and dezaggregation phenomena in the blood of newborn calves are they required for this phase of the perfusion of the Microcirculatory bed, internal organs and metabolism in tissues, contributing further to the growth and development of the animal.

Keywords: phase after birth, calves, vascular wall, antiaggregation, elements of blood.

В результате работы сердца кровь, состоящая из форменных элементов и плазмы, непрерывно перемещается по сосудам животного, обеспечивая газообмен и доставку к тканям питательных и биологически активных веществ, а также удаление из них токсических соединений и шлаков [3; 8]. Успешность гемоциркуляции, особенно в сосудах наименьшего калибра, во многом зависит от агрегации форменных элементов крови, выраженность которой находится под постоянным контролем со стороны сосудистой стенки [8]. Замечено, что избыточная агрегация эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов может нарушать метаболические процессы и тормозить развитие животных [9; 10]. В этой связи становится

актуальной оценка выраженности агрегации форменных элементов крови и сосудистого контроля над нею у телят в самом начале онтогенеза – в фазу новорожденности. В этом нуждается не только фундаментальная наука, но и практика, т.к. нарушения агрегационно-деагрегационных взаимодействий в крови у новорожденных телят играют существенную роль в патогенезе многих заболеваний [5]. Для ветеринарии необходимы точно выверенные нормативные показатели агрегации основных форменных элементов крови и антиагрегационного контроля сосудов над ними для оценки степени его динамики у новорожденных телят на фоне применения в случае необходимости различных вариантов коррекции их состояния [6].

В работе поставлена цель – установить выраженность агрегационных свойств форменных элементов крови и антиагрегационного контроля сосудов над ними у телят в течение фазы новорожденности.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 32 телятах черно-пестрой породы, взятых в исследование на 1-2 сутки жизни. Обследование проводилось в течение фазы новорожденности пятикратно – на 1-2, 3-4, 5-6, 7-8 и 9-10 сутки жизни.

Выраженность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме оценивалась по содержанию тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» и ацилгидроперекисей (АГП) [4]. Антиокислительный потенциал жидкой части крови определялся по ее антиокислительной активности (АОА) [3].

Сосудистый контроль над агрегацией форменных элементов крови определяли по ее ослаблению в пробе с временной венозной окклюзией [1].

Выраженность агрегации эритроцитов до и после временной ишемии стенки сосуда определяли с помощью светового микроскопа в камере Горяева, регистрируя количество агрегатов эритроцитов, число агрегированных и неагрегированных эритроцитов [9]. У всех телят путем деления суммы всех эритроцитов в агрегатах на величину этой суммы на фоне временной венозной окклюзии [1] рассчитывался индекс контроля сосудов над суммой эритроцитов в агрегате (ИКССЭА), в результате деления количества агрегатов без временной венозной окклюзии на их количество на фоне временной венозной окклюзии определяли индекс контроля сосудов над количеством эритроцитарных агрегатов (ИКСКЭА) и в ходе деления количества свободных эритроцитов на фоне временной венозной окклюзии на количество свободных эритроцитов без нее высчитывалась величина индекса контроля сосудов над количеством свободных эритроцитов (ИКСКСЭ).

Агрегацию тромбоцитов (АТ) оценивали с помощью визуального микрометода оценки АТ [10] до и после венозной окклюзии с применением АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М), коллагена

(разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125 ед/мл), ристомицина (0,8 мг/мл) и адреналина ($5,0 \times 10^{-6}$ М) в богатой тромбоцитами плазме со стандартизированным количеством тромбоцитов 200×10^9 тр. Индекс антиагрегационной активности сосудистой стенки (ИААСС) выявляли при делении времени развития АТ после венозной окклюзии на время без нее [1].

Дезагрегационное влияние сосудов на нейтрофилы оценивалось по способности этих клеток к агрегации на фотоэлектроколориметре в плазме, полученной после наложения манжетки и без нее [11]. В качестве индукторов применены лектин зародыша пшеницы в дозе 32 мкг/мл, конканавалин А – 32 мкг/мл и фитогемагглютинин – 32 мкг/мл. У всех телят рассчитывался индекс торможения сосудистой стенкой агрегации нейтрофилов (ИТССАН) путем деления величины агрегации нейтрофилов в плазме, полученной без манжетки, на ее величину в плазме, взятой с наложением манжетки. Статистическая обработка полученных результатов велась t-критерием Стьюдента.

Результаты исследований

У телят отмечена невысокая активность ПОЛ плазмы, имеющая тенденцию к снижению в течение срока наблюдения – содержание в ней АГП уменьшилось с $1,53 \pm 0,26$ Д_{233/1} мл до $1,42 \pm 0,31$ Д_{233/1} мл, ТБК-активных продуктов с $3,62 \pm 0,12$ мкмоль/л до $3,48 \pm 0,24$ мкмоль/л. Это сопровождалось тенденцией к росту АОА плазмы с $32,0 \pm 0,42\%$ на 1-2 сутки до $33,4 \pm 0,28\%$ на 9-10 сутки.

В течение фазы новорожденности у телят отмечена тенденция к повышению спонтанной агрегации эритроцитов, о чем судили по наклонности к увеличению суммарного количества эритроцитов в агрегате (на 4,7%), нарастанию количества самих агрегатов (на 2,5%) и понижению числа свободно лежащих красных кровяных телец (на 2,4%).

На фоне временной венозной окклюзии у телят в течение новорожденности суммарное количество эритроцитов в агрегатах за первые 10 суток жизни сократилось на 3,1%, число этих агрегатов уменьшилось на 2,8%, что сопровождалось увеличением числа свободных эритроцитов на 1,7%, обеспечив тенденцию к повышению ИКССЭА, ИКСКЭА и ИКСКСЭ (табл. 1).

У всех телят в течение новорожденности отмечена тенденция к усилению агрегации тромбоцитов. Так, у них на 1-2 сутки жизни время развития АТ под влиянием коллагена составляло $31,6 \pm 0,19$ с, находясь в течение новорожденности на достаточно низком уровне. Аналогичное состояние АТ у здоровых новорожденных животных отмечено для АДФ (в среднем $40,3 \pm 0,15$ с) и ристомицина (в среднем $48,1 \pm 0,19$ с). В более поздние сроки развивалась тромбиновая и адреналиновая АТ, также не испытывая достоверной динамики в

течение наблюдения и составляя в среднем $53,2 \pm 0,16$ с и $98,9 \pm 0,32$ с, соответственно (табл. 1).

В пробе с временной венозной окклюзией найдена тенденция к замедлению АТ. Это указывало у наблюдаемых телят на склонность к усилению у них контроля стенки сосуда над тромбоцитарной агрегацией, что подтверждалось найденной тенденцией к увеличению ИААСС, достигших у телят к 9-10 суткам жизни: для адреналина $1,64 \pm 0,008$, для АДФ $1,65 \pm 0,004$, для коллагена $1,62 \pm 0,008$, для тромбина $1,53 \pm 0,006$, для ристомицина $1,52 \pm 0,004$ (табл. 1).

В течение новорожденности у телят также отмечена тенденция к усилению агрегации нейтрофилов. Так, агрегация нейтрофилов у них за время наблюдения возросла с лектином на 2,7%, с конканавалином А на 6,9%, с фитогемагглютинином на 3,7%.

В пробе с временной венозной окклюзией их агрегация также имела склонность к усилению в отношении всех испытанных индукторов, что обусловило тенденцию к повышению ИТССАН для лектина на 5,0%, для конканавалина А на 3,3%, для фитогемагглютинина на 3,4% (табл. 1).

Таблица 1. Агрегация форменных элементов крови и антиагрегационный контроль над ней сосудов у новорожденных телят

Определяемые показатели	Фаза новорожденности, n=32, M±m					
	1-2 сут. жизни	3-4 сут. жизни	5-6 сут. жизни	7-8 сут. жизни	9-10 сут. жизни	средние величины
Сумма всех эритроцитов в агрегате	$38,5 \pm 0,24$	$39,2 \pm 0,31$	$39,6 \pm 0,39$	$39,9 \pm 0,27$	$40,3 \pm 0,38$	$39,5 \pm 0,32$
ИКССЭА	$1,17 \pm 0,007$	$1,19 \pm 0,006$	$1,21 \pm 0,004$	$1,24 \pm 0,009$	$1,27 \pm 0,007$	$1,22 \pm 0,007$
Количество эритроцитарных агрегатов	$8,0 \pm 0,14$	$8,0 \pm 0,18$	$8,1 \pm 0,09$	$8,1 \pm 0,15$	$8,2 \pm 0,19$	$8,1 \pm 0,15$
ИКСКЭА	$1,11 \pm 0,004$	$1,12 \pm 0,006$	$1,14 \pm 0,008$	$1,16 \pm 0,005$	$1,17 \pm 0,003$	$1,14 \pm 0,005$
Количество свободных эритроцитов	$253,1 \pm 1,34$	$251,0 \pm 1,63$	$250,1 \pm 1,42$	$248,9 \pm 2,08$	$247,2 \pm 1,85$	$250,1 \pm 1,66$
ИКСКСЭ	$1,18 \pm 0,012$	$1,19 \pm 0,009$	$1,20 \pm 0,010$	$1,21 \pm 0,006$	$1,23 \pm 0,009$	$1,20 \pm 0,009$
Агрегация тромбоцитов с АДФ, с	$40,8 \pm 0,14$	$40,6 \pm 0,16$	$40,3 \pm 0,10$	$40,0 \pm 0,18$	$39,8 \pm 0,19$	$40,3 \pm 0,15$
ИААСС с АДФ	$1,59 \pm 0,006$	$1,60 \pm 0,005$	$1,62 \pm 0,007$	$1,64 \pm 0,005$	$1,65 \pm 0,004$	$1,62 \pm 0,005$
Агрегация тромбоцитов с коллагеном, с	$31,6 \pm 0,19$	$31,4 \pm 0,12$	$31,3 \pm 0,11$	$31,0 \pm 0,09$	$30,8 \pm 0,17$	$31,2 \pm 0,14$
ИААСС с коллагеном	$1,56 \pm 0,004$	$1,58 \pm 0,005$	$1,59 \pm 0,007$	$1,60 \pm 0,005$	$1,62 \pm 0,008$	$1,59 \pm 0,006$
Агрегация тромбоцитов с тромбином, с	$53,9 \pm 0,14$	$53,6 \pm 0,12$	$53,2 \pm 0,19$	$52,8 \pm 0,14$	$52,6 \pm 0,20$	$53,2 \pm 0,16$

ИААСС с тромбином	1,50±0,006	1,50±0,004	1,51±0,008	1,52±0,004	1,53±0,006	1,51±0,006
Агрегация тромбоцитов с ристомицином, с	48,6±0,14	48,5±0,19	48,2±0,21	47,8±0,19	47,5±0,23	48,1±0,19
ИААСС с ристомицином	1,49±0,005	1,50±0,006	1,50±0,009	1,51±0,007	1,52±0,004	1,50±0,006
Агрегация тромбоцитов с адреналином, с	99,8±0,34	99,3±0,29	98,9±0,37	98,4±0,28	97,9±0,31	98,9±0,32
ИААСС с адреналином	1,62±0,003	1,62±0,006	1,63±0,005	1,64±0,004	1,64±0,008	1,63±0,005
Агрегация нейтрофилов с лектином, %	14,2±0,12	14,2±0,18	14,3±0,16	14,4±0,23	14,6±0,20	14,3±0,18
ИТССАН с лектином	1,20±0,006	1,22±0,005	1,23±0,006	1,24±0,008	1,26±0,008	1,23±0,007
Агрегация нейтрофилов с конканавалином А, %	13,5±0,13	13,7±0,14	13,9±0,18	14,2±0,09	14,5±0,15	13,9±0,14
ИТССАН с конканавалином А	1,22±0,005	1,24±0,007	1,24±0,008	1,25±0,007	1,26±0,004	1,24±0,006
Агрегация нейтрофилов с фитогемагглютинином, %	26,2±0,16	26,5±0,18	26,7±0,16	26,9±0,15	27,2±0,22	26,7±0,17
ИТССАН с фитогемагглютинином	1,16±0,005	1,17±0,006	1,18±0,007	1,19±0,004	1,20±0,005	1,18±0,005

Обсуждение

Развитие животноводства требует серьезного подхода к обеспечению сохранности молодняка [2]. В этой связи большое значение придается исследованиям по физиологии крови у телят в течение новорожденности, и в т.ч. агрегации ее форменных элементов крови, во многом обеспечивающей ее реологию [5; 8]. Стабильно высокая АОА плазмы обеспечивает невыраженную в ней активность ПОЛ [3; 9]. Выявленная у новорожденных телят низкая интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме способствует незначительности перестроек в мембранах эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, которые в данных условиях проявляют невысокую агрегабельность при выраженной функциональной активности эндотелиоцитов.

Очевидно, нормальная агрегация эритроцитов у телят *in vivo* во многом обеспечена высокой дезагрегирующей способностью сосудистой стенки при одновременно оптимальной электроотрицательности поверхности эритроцитов за счет нарастания количества на их мембране отрицательно заряженных протеинов [9]. Эффективный контроль над генерацией активных форм кислорода обеспечивает минимизацию оксидативных повреждений данных белков мембраны и глобулярных протеинов плазмы, способных связывать эритроциты между собой в уже образовавшихся агрегатах [9; 10]. Высокий контроль сосудистой стенки над агрегацией эритроцитов, очевидно, имеет в своей основе повышенную концентрацию в

крови новорожденных телят простаглицлина и NO, поддерживающих в красных кровяных тельцах оптимум активности аденилатциклазы и фосфодиэстеразы, обеспечивающих физиологическое соотношение в их цитоплазме количества циклического АМФ и Ca²⁺.

Авторы считают, что фаза новорожденности характеризуется сложными обменными сдвигами, неизбежно влияющими на поверхностные свойства эритроцитов. Можно думать, что регистрирующееся у новорожденных телят в кровотоке низкое содержание измененных эритроцитов при высоком количестве свободных эритроцитов [9] во многом обеспечивает должные реологические свойства крови, достаточную перфузию внутренних органов и способствует оптимальному онтогенезу.

В течение всей новорожденности у телят отмечена тенденция к усилению агрегационной активности тромбоцитов, достоверно понижающейся в пробе с временной венозной окклюзией. При этом у новорожденных телят исходная активность тромбоцитов достаточно низка [5], что, очевидно, связано с невыраженностью стимулирующих экзогенных влияний на них при низкой концентрации в крови фактора Виллебранда – кофактора адгезии тромбоцитов и числа рецепторов к нему – (GPIb) на поверхности кровяных пластинок. Это подтверждала у телят невысокая АТ в ответ на ристомицин.

Оптимальная АТ с сильными и слабыми агонистами агрегации обуславливалась невысокой активностью фосфолипаз А₂ и С, стимулирующих тромбоксановый и фосфоинозитольный путь активации тромбоцитов.

Выраженное торможение АТ и тенденция к повышению чувствительности тромбоцитов к дезагрегирующим воздействиям со стороны сосудистой стенки у телят в течение первых 10 суток жизни имеет в своей основе оптимальность выработки в эндотелии простаглицлина и NO во многом вследствие невыраженности ПОЛ плазмы.

Нормальная агрегация нейтрофилов, полученная у наблюдаемых телят, видимо, связана с высокими антиагрегационными возможностями сосудов, сочетающимися с оптимумом состава гликопротеиновых рецепторов лейкоцитов и их невысокой чувствительностью к лектинам, использованным в качестве индукторов. Слабая тенденция к росту лектин- и конканавалин А-индуцированной агрегации нейтрофилов у новорожденных телят обеспечивалась тенденцией к усилению экспрессии на их поверхности рецепторов адгезии и увеличением в их составе участков, содержащих N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-нейраминую кислоту и маннозу. Тенденция к росту индуцированной фитогемагглютинином агрегации обеспечивалась склонностью к нарастанию в их рецепторах участков гликопротеинов, содержащих bD-галактозу при эффективном сдерживании агрегации высокой выработкой в сосудах животных простаглицлина и NO.

Оптимальное агрегационных свойств эритроцитов, тромбоцитов и нейтрофилов у новорожденных телят обеспечивает необходимый для данного этапа онтогенеза уровень жидкостных свойств крови и требующуюся перфузию внутренних органов, что в значительной степени поддерживает нужный для роста и развития животного уровень метаболизма в тканях. Несомненно, что выявленные особенности активности агрегационных свойств форменных элементов крови и сосудистого контроля над ней во многом обеспечивают переход организма к внеутробному существованию и являются важным элементом общего адаптационного процесса организма в раннем онтогенезе.

Заключение. В первые 10 суток жизни у телят выявлена тенденция к усилению агрегации форменных элементов крови. Для телят в течение новорожденности оказалось характерна склонность к усилению дезагрегирующего контроля со стороны сосудистой стенки над агрегационными свойствами эритроцитов, тромбоцитов и нейтрофилов.

Список литературы

1. Балуда В.П., Соколов Е.И., Балуда М.В. Манжеточная проба в диагностике функционального состояния сосудистого звена системы гемостаза // Гематология и трансфузиология. – 1987. – № 9. – С. 51-53.
2. Ватников Ю.А., Курняк Н.Ю., Порфирьев И.А. Проблемы интенсификации воспроизводства крупного рогатого скота // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2009. – № 10. – С. 4-12.
3. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000. – 167 с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. - 1983. – № 3. – С. 33-36.
5. Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И. Контроль сосудистой стенки над индуцированной агрегацией тромбоцитов у новорожденных телят в условиях дефицита железа // Ветеринарная практика. – 2013. – № 2 (61). – С. 40-42.
6. Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И., Медведев И.Н. Антиагрегационные возможности сосудов у новорожденных телят с дефицитом железа на фоне ферроглюкина и гамавита // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. – 2013. – № 2 (15). – С. 3-5.
7. Захария Е.А., Кинах М.В. Упрощенный способ определения агрегации и дезагрегации тромбоцитов // Лабораторное дело. – 1989. – № 1. – С. 36-38.

8. Кутафина Н.В., Завалишина С.Ю. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2012. – № 1. – С. 30-37.
9. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 42-45.
10. Шитикова А.С. Визуальный микрометод исследования агрегации тромбоцитов // Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. – СПб., 1999. – С. 49-53.

Рецензенты:

Смахтин М.Ю., д.б.н., профессор, профессор кафедры биохимии Курского государственного медицинского университета, г. Курск.

Грушкин А.Г., д.б.н., профессор кафедры ветеринарии и физиологии животных Калужского филиала РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Калуга.