

АГРЕГАЦИЯ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ И СОСУДИСТЫЙ КОНТРОЛЬ НАД НЕЮ У ТЕЛЯТ РАСТИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ, Курск, E-mail: ilmedv1@yandex.ru

Физиологичность соотношения агрегации и дезагрегации определяет оптимум микроциркуляции, от которого во многом зависят процессы роста и развития в организме животного. Цель – выявить особенности агрегационной активности форменных элементов крови и антиагрегационного контроля сосудов над ними у телят растительного питания. Исследование выполнено на 46 телятах растительного питания, обследованных за четвертую фазу раннего онтогенеза 4 раза. В течение всего наблюдения у телят отмечено постепенное повышение агрегации форменных элементов крови. Это сопровождалось у них нарастанием выраженности антиагрегационного контроля сосудистой стенки за счет усиления выработки в эндотелии оксида азота и простациклина. Найденные особенности агрегационных и дезагрегационных явлений в крови у телят 91 суток — 12 месяцев жизни являются следствием перехода животного на питание только растительными кормами, его ростом и созреванием.

Ключевые слова: фаза растительного питания, телята, сосудистая стенка, агрегация, форменные элементы крови.

AGGREGATION OF BLOOD AND VASCULAR CONTROL OF IT CALVES POWER PLANT

Medvedev I.N., Zavalishina S.Y., Glagoleva T.I.

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

Physiologic ratio aggregation and disaggregation defines optimum microcirculation, which largely depend on the processes of growth and development in the animal body. The goal - to find out features of aggregation activity of blood cells and blood vessels antiaggregation control over them calves plant nutrition. The study was performed on 46 calves power plant surveyed for the fourth phase of early ontogenesis 4 times. Throughout the observation of calves observed a gradual increase in the aggregation of blood cells. This was accompanied by increase of the severity of their antiaggregation control of the vascular wall by increasing production of nitric oxide in the endothelium and prostacyclin. Point of aggregation and disaggregation particular phenomena in the blood of calves 91 days - 12 months of life are the result of the transition of an animal for food only vegetable foods, his growth and maturation.

Keywords: phase of plant nutrition, calves, vascular wall, aggregation, blood cells.

Непрерывно циркулируя по сосудам, кровь, состоящая из плазмы и форменных ее элементов, постоянно выполняет ряд жизненно важных функций, немаловажная из которых — доставка питательных и биологически активных веществ в ткани и реализация в них газообмена [9]. Физиологичность соотношения агрегации и дезагрегации определяет оптимум микроциркуляции, от которого во многом зависят процессы роста и развития в организме животного [1]. Установлено, что повышение агрегации клеток крови способно отрицательно повлиять на обменные процессы и внести патологию в течение онтогенеза животных [3,4]. С научной и с практической точки зрения весьма значимо выяснение состояния агрегационной активности форменных элементов крови и сосудистого контроля над ней в течение онтогенеза у продуктивных животных, в том числе у телят в конце раннего онтогенеза – в фазу растительного питания. Получение данных сведений поможет в будущем оценить изменения агрегационно-деагрегационных взаимодействий в крови у этих

животных при различных состояниях [2]. Кроме того, с ее учетом возможно проводить учет динамики показателей агрегации основных форменных элементов крови и уровня антиагрегационного контроля сосудов над ними у телят с различной патологией на фоне использования у них различных вариантов коррекции их состояния [4, 5, 6].

В работе поставлена цель – выяснить особенности агрегационной активности форменных элементов крови и антиагрегационного контроля сосудов над ними у телят растительного питания.

Материалы и методы

Работа выполнена на 46 телятах, взятых в исследование на 91-е сутки жизни.

Обследование проводилось в течение фазы растительного питания 4 раза – на 91-е сутки, в 6 месяцев, 9 месяцев и 12 месяцев жизни.

Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме выяснялась по содержанию тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» и ацилгидроперекисей (АГП) с оценкой в ней антиокислительной активности (АОА) традиционными методами.

Выраженность сосудистого контроля над агрегацией форменных элементов крови устанавливали по ее ослаблению в пробе с временной венозной окклюзией.

Активность спонтанной агрегации эритроцитов регистрировалась до и после временной ишемии стенки сосуда в камере Горяева путем учета количества агрегатов эритроцитов, числа агрегированных и неагрегированных красных кровяных телец [10]. У всех телят в ходе деления суммы всех эритроцитов в агрегатах на значение этой суммы на фоне временной венозной окклюзии вычислялось значение индекса контроля сосудов над суммой эритроцитов в агрегате (ИКССЭА). При делении числа агрегатов без временной венозной окклюзии на их количество на фоне временной венозной окклюзии рассчитывался индекс контроля сосудов над количеством эритроцитарных агрегатов (ИКСКЭА). В ходе деления количества отдельно лежащих эритроцитов на фоне временной венозной окклюзии на величину свободных эритроцитов без нее высчитывалось значение индекса контроля сосудов над количеством свободных эритроцитов (ИККСЭ).

Агрегация тромбоцитов (АТ) устанавливалась визуальным микрометодом [10] до и после венозной окклюзии с АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М), коллагеном (разведение 1:2 основной суспензии), ристомицином (0,8 мг/мл), тромбином (0,125 ед/мл) и адреналином ($5,0 \times 10^{-6}$ М) в богатой тромбоцитами плазмы со стандартизированным числом тромбоцитов 200×10^9 тр. Величина индекса антиагрегационной активности сосудистой стенки (ИААСС) определялась в ходе деления продолжительности АТ после венозной окклюзии на время без нее.

Состояние дезагрегационных воздействий сосудов на нейтрофилы выяснялось по способности этих клеток к агрегации на фотоэлектродиметре в плазме, полученной после наложения манжетки по сравнению с таковой без нее. В качестве индукторов использованы лектин зародыша пшеницы в дозе 32 мкг/мл, конканавалин А – 32 мкг/мл и фитогемагглютинин – 32 мкг/мл. У всех телят высчитывался индекс торможения сосудистой стенкой агрегации нейтрофилов (ИТССАН) в ходе деления значения агрегации нейтрофилов в плазме, полученной без наложения на сосуд манжетки на ее величину в плазме, взятой на фоне временной венозной окклюзии. Статистическая обработка результатов осуществлена t-критерием Стьюдента.

Результаты исследования

В плазме телят в течение фазы растительного питания выявлено исходно невысокое содержание продуктов ПОЛ с тенденцией к их понижению между 91-ми сутками и 12 месяцами жизни – содержание в ней АГП снизилось с $1,42 \pm 0,16$ Д₂₃₃/1 мл до $1,34 \pm 0,16$ Д₂₃₃/1 мл, ТБК-активных продуктов с $3,60 \pm 0,10$ мкмоль/л до $3,31 \pm 0,12$ мкмоль/л на фоне плавной тенденции к усилению АОО плазмы с $33,4 \pm 0,29\%$ на 91-е сутки до $35,3 \pm 0,33\%$ в 12 месяцев жизни.

У наблюдаемых телят удалось зарегистрировать тенденцию к повышению спонтанной агрегации эритроцитов, на что указывали нарастание в течение четвертой фазы раннего онтогенеза суммарного количества эритроцитов в агрегате (на 8,8%), увеличение числа самих агрегатов (на 7,6%) и снижение количества свободно лежащих красных кровяных телец (на 6,6%).

В результате проведения пробы с временной ишемией венозной стенки у телят растительного питания суммарное число эритроцитов в агрегатах и количество данных испытывали небольшую тенденцию к росту агрегатов (на 3,2% и 1,4% соответственно), сопровождаясь неизменностью числа свободных эритроцитов, что обеспечило увеличение ИКССЭА, ИКСКЭА и ИКСКСЭ (таблица).

У телят в течение фазы растительного питания выявлена тенденция к ускорению агрегации тромбоцитов. Так, за четвертую фазу раннего онтогенеза время наступления АТ в ответ на коллаген сокращалось до $27,1 \pm 0,10$ с. Аналогичная динамика АТ у животных отмечена для АДФ ($36,3 \pm 0,12$ с на 91-е сутки и $34,2 \pm 0,08$ с в 12 месяцев жизни) и ристомицина ($45,0 \pm 0,12$ с на 91-е сутки и $40,4 \pm 0,17$ с в 12 месяцев жизни). В более поздние сроки наступала тромбиновая и адреналиновая АТ, также ускоряющиеся в течение фазы растительного питания на 4,3% и на 6,9% (до $46,5 \pm 0,18$ с и $90,2 \pm 0,41$ с, соответственно) (таблица).

При проведении проб с временной венозной окклюзией для всех индукторов отмечена легкая тенденция к ускорению АТ с 91 суток до 12 месяцев жизни. Это сопровождалось у наблюдаемых животных в течение фазы растительного питания тенденцией к росту ИААСС в отношении всех испытанных агонистов с достижением к концу наблюдения следующих величин: для адреналина $1,70 \pm 0,005$, для АДФ $1,69 \pm 0,004$, для коллагена $1,66 \pm 0,007$, для ристомицина $1,60 \pm 0,009$, для тромбина $1,57 \pm 0,003$ (таблица).

На протяжении фазы растительного питания у телят удалось выявить постепенное усиление агрегации нейтрофилов с лектином на 10,5%, с конканавалином А на 8,6%, с фитогемагглютинином на 12,6%.

При проведении пробы с временной венозной ишемией венозной стенки их агрегация также испытывала тенденцию к повышению в отношении всех примененных индукторов, что обусловило у них в этом возрасте постепенное повышение ИТССАН для лектина на 17,2%, для конканавалина А на 4,4%, для фитогемагглютина на 4,6% (таблица).

Обсуждение

Неуклонное увеличение потребности в продуктах животноводства выдвигает необходимость его интенсификации, что требует активизации поиска вариантов повышения сохранности молодняка [9]. По этой причине уделяется большое внимание исследованиям по физиологии крови у телят в течение всего раннего онтогенеза и особенно процессам агрегации ее форменных элементов крови и сосудистому контролю над нею [6,7]. Трудно переоценить физиологическое значение фазы растительного питания, когда у теленка происходит завершение роста и развития и идут процессы созревания. В течение всей фазы у животных выявлено усиление АОА плазмы, что эффективно сдерживало активность ПОЛ. Ослабляющаяся у наблюдаемых телят интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме способствует оптимизации морфофункционального состояния мембран эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов. В складывающихся условиях данные форменные элементы показывают постепенное усиление своей агрегабельности при неуклонном усилении сосудистого контроля над нею за счет повышения синтетической активности эндотелиоцитов.

Очевидно, физиологические процессы в организме телят растительного питания обеспечивают сбалансированность агрегации эритроцитов *in vivo* и дезагрегирующей способности сосудистой стенки и динамики электроотрицательности поверхности эритроцитов за счет оптимальных изменений количества на их мембране белков с отрицательным зарядом [10]. Сохранение высокой степени контроля над генерацией активных форм кислорода обеспечивает постоянное эффективное сдерживание оксидативных повреждений этих мембранных белков и глобулярных плазменных протеинов,

способных осуществлять процесс сцепления эритроцитов друг с другом в уже возникших агрегатах. Выраженный контроль сосудистой стенки над агрегацией эритроцитов обеспечивается тенденцией к нарастанию в крови телят концентраций простаглицлина и NO, обеспечивающих в красных кровяных тельцах оптимум функциональных свойств аденилатциклазы и фосфодиэстеразы, поддерживающих в них физиологический баланс циклического АМФ и Ca^{2+} .

К 12 месяцам жизни у телят отмечено постепенное нарастание агрегационной активности тромбоцитов, что проявилось в интактной плазме и плазме после временной венозной окклюзии. Очевидно, это связано с нарастанием стимулирующих экзогенных влияний на них при повышении их чувствительности к ним. Становится ясно, что в фазу растительного питания у телят нарастает в крови концентрация фактора Виллебранда – кофактора адгезии тромбоцитов и количества рецепторов к нему – (GPIb) на поверхности кровяных пластинок, выявляемое ускорением АТ на ристомицин [7].

Выявленная динамика АТ с сильными и слабыми индукторами агрегации была во многом связана с постепенным повышением активности фосфолипаз A_2 и C, обеспечивающих тромбоксановый и фосфоинозитольный пути активации кровяных пластинок [8].

Выявленное ускорение АТ было связано с усилением чувствительности тромбоцитов к агрегирующим влияниям, сочеталось с увеличением влияния на тромбоциты со стороны сосудистой стенки, что имело в своей основе усиление выработки в эндотелии простаглицлина и NO во многом вследствие ослабления в течение фазы растительного питания раннего онтогенеза ПОЛ в плазме [6,8].

Постепенное нарастание агрегации нейтрофилов между 91-ми сутками и 12 месяцами жизни у телят сочеталось с постепенным усилением антиагрегационных возможностей сосудов в отношении этих клеток крови, что имело в своей основе возрастную динамику состава гликопротеиновых рецепторов лейкоцитов и их чувствительности к лектинам, примененным в работе как индукторы. Постепенное усиление лектин- и конканавалин А вызванной агрегации нейтрофилов у телят в течение фазы растительного питания было связано с усилением экспрессии на их поверхности рецепторов адгезии и увеличением в их составе участков, имеющих N-ацетил-D-глюкозамин, маннозу и N-ацетил-нейраминую кислоту. Развивающееся повышение индуцированной фитогемагглютинином агрегации было вызвано нарастанием в их рецепторах в течение срока наблюдения участков гликопротеинов, включающих bD-галактозу при эффективном сдерживании агрегации повышением синтеза в эндотелии сосудов животных простаглицлина и NO.

Прослеженное постепенное усиление агрегационных свойств форменных элементов крови и выраженности сосудистого контроля над ними является следствием адаптации организма телят к процессам роста и созревания и основой эффективности обменных процессов в раннем онтогенезе.

**Агрегация форменных элементов крови и антиагрегационный контроль над нею
сосудов у телят растительного питания**

Параметры	Фаза растительного питания, n=46, M±m				
	91-е сутки жизни	6 месяцев жизни	9 месяцев жизни	12 месяцев жизни	средние величины
Сумма всех эритроцитов в агрегате	44,3±0,19	46,2±0,28	47,3±0,16	48,6±0,24	46,4±0,22
ИКССЭА	1,32±0,006	1,34±0,005	1,37±0,008 p<0,05	1,40±0,006 p<0,05	1,36±0,006
Количество эритроцитарных агрегатов	8,5±0,07	8,7±0,04	8,9±0,10	9,2±0,05 p<0,05	8,8±0,07
ИКСКЭА	1,18±0,005	1,21±0,004 p<0,05	1,23±0,006	1,26±0,004 p<0,05	1,22±0,005
Количество свободных эритроцитов	240,2±1,25	236,2±1,05	231,3±0,89	225,4±1,19	233,3±1,10
ИКСКСЭ	1,23±0,007	1,25±0,008	1,28±0,005 p<0,05	1,31±0,009 p<0,05	1,27±0,007
Агрегация с АДФ, с	36,3±0,12	35,8±0,14	35,1±0,10	34,2±0,08	35,4±0,11
Агрегация с АДФ на фоне венозной окклюзии, с	59,5±0,20	59,1±0,18	58,6±0,20	57,8±0,19	58,8±0,19
ИААСС с АДФ	1,64±0,004	1,65±0,005	1,67±0,006	1,69±0,004	1,66±0,005
Агрегация с коллагеном, с	30,0±0,10	29,2±0,13	28,3±0,15	27,1±0,10	28,7±0,12
ИААСС с коллагеном	1,61±0,002	1,63±0,004 p<0,05	1,64±0,004	1,66±0,007	1,64±0,004
Агрегация с тромбином, с	48,5±0,19	47,9±0,23	47,2±0,20	46,5±0,18	47,5±0,20
ИААСС с тромбином	1,52±0,008	1,54±0,005	1,56±0,006	1,57±0,003	1,55±0,006
Агрегация с ристомидином, с	45,0±0,12	43,8±0,08	41,7±0,13	40,4±0,17	42,7±0,13
ИААСС с ристомидином	1,55±0,006	1,56±0,008	1,58±0,009	1,60±0,009	1,57±0,008
Агрегация с адреналином, с	96,4±0,30	94,7±0,22	92,3±0,34	90,2±0,41	93,4±0,32
ИААСС с адреналином	1,64±0,002	1,65±0,004	1,67±0,003	1,70±0,005 p<0,05	1,67±0,004
Агрегация с АДФ и адреналином, с	35,6±0,19	34,9±0,15	33,8±0,21	33,0±0,16	34,3±0,18
ИААСС с АДФ и адреналином	1,44±0,004	1,45±0,005	1,47±0,004	1,49±0,007	1,46±0,005

Агрегация с АДФ и коллагеном, с	26,5±0,10	26,0±0,14	25,2±0,06	24,3±0,08	25,5±0,10
ИААСС с АДФ и коллагеном	1,35±0,003	1,36±0,006	1,38±0,005	1,40±0,008	1,37±0,006
Агрегация с адреналином и коллагеном, с	29,4±0,16	28,7±0,20	27,8±0,19	26,2±0,14	28,0±0,17
ИААСС с адреналином и коллагеном	1,51±0,005	1,52±0,006	1,54±0,004	1,56±0,005	1,53±0,005
Агрегация нейтрофилов с лектином, %	15,4±0,10	15,9±0,02 p<0,05	16,4±0,14	17,2±0,06 p<0,05	16,2±0,08
ИТССАН с лектином	1,28±0,002	1,32±0,004 p<0,05	1,34±0,005	1,38±0,002 p<0,05	1,33±0,003
Агрегация нейтрофилов с конканавалином А, %	15,9±0,14	16,3±0,08	16,8±0,06 p<0,05	17,4±0,10 p<0,05	16,6±0,10
ИТССАН с конканавалином А	1,29±0,006	1,31±0,003 p<0,05	1,33±0,005	1,35±0,002	1,32±0,004
Агрегация нейтрофилов с фитогемагглютинином, %	29,2±0,08	30,1±0,11	31,3±0,10	33,4±0,13	31,0±0,11
ИТССАН с фитогемагглютинином	1,23±0,003	1,25±0,005	1,27±0,002	1,29±0,006	1,26±0,004

Условные обозначения: p – достоверность возрастной динамики учитываемых показателей.

Заключение

Для телят растительного питания свойственно сбалансированное усиление агрегации форменных элементов крови и нарастания у них дезагрегирующих влияний со стороны сосудистой стенки. Данные изменения следует рассматривать как адаптивные реакции организма, связанные с ростом и развитием в условиях взаимодействия с окружающей средой.

Список литературы

1. Завалишина С.Ю. Функциональное состояние системы гемостаза у новорожденных телят // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С. 42–45.
2. Завалишина С.Ю. Гемостатическая активность сосудистой стенки у новорожденных телят // Доклады российской академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – № 1.– С. 37–39.
3. 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.
4. 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.
5. Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Гемостатически значимая активность сосудов у поросят при потреблении растительных кормов // Сельскохозяйственная биология, серия «Биология

животных». – 2013. – № 2. – С. 88–92.

6. Кутафина Н.В., Завалишина С.Ю. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2012. – № 1. – С. 30–37.

7. Кутафина Н.В., Медведев И.Н. Количественное определение фактора Виллебранда // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 4. – С. 72.

8. Кутафина Н.В. Механизмы функционирования сосудистого гемостаза // Международный научно-исследовательский журнал. – 2012. – № 5–3(5). – С. 64–65.

9. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю. Динамика активности системы гемостаза у молодняка крупного рогатого скота в раннем онтогенезе // Зоотехния. – 2013. – № 11. – С. 20–21.

10. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Кутафина Н.В. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных свойств тромбоцитов и эритроцитов // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-1. – С. 117–120.

Рецензенты:

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

Фурман Ю.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой социальной работы и социальных технологий Курского института социального образования (филиал) РГСУ, г. Курск.