

АКТИВНОСТЬ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ У СТЕЛЬНЫХ КОРОВ И СУПОРОСНЫХ СВИНОМАТОК В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ КОСТРОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Соловьева Л.П., Горбунова Н.П., Рыбакова Г.К., Калыш Т.В., Бармин С.В.

Костромская государственная сельскохозяйственная академия, Кострома, Россия, E-mail: slp.52@mail.ru

Беременность является у коров и свиней важным этапом их индивидуального развития и требует адекватной активности приспособительных механизмов, в том числе всех элементов системы гемостаза. Осеменением начало развития плодов в их организмах неизбежно сказывается на показателях крови, в том числе на реологических свойствах форменных элементов и на гемостазе и сопровождается адекватными изменениями во всех системах организма, обеспечивая адаптацию животных к сложившимся физиологическим условиям. У коров в течение стельности имеет место ослабление тромбоцитарного и плазменного гемостаза во многом уравновешенное состоянием гемостатической активности сосудов. Для свиноматок в течение супоросности свойственны аналогичные изменения данных показателей. Несомненно, выявленная динамика гемостаза у обоих видов продуктивных животных являются элементом адаптации их организма к беременности, необходимым для роста и развития плодов и рождения здорового потомства.

Ключевые слова: коровы, свиноматки, кровь, гемостаз, беременность.

ACTIVITY HOMEOSTATIC MECHANISMS HAVE PREGNANT COWS AND SOWS IN ECOLOGICAL CONDITIONS KOSTROMA REGION

Solovyova L.P., Gorbunova N.P., Rybakova G.K., Kalysh T.V., Barmin S.V.

Kostroma State Agricultural Academy, Kostroma, Russia, E-mail: slp.52@mail.ru

Pregnancy is from cows and pigs important stage of their individual development and requires adequate activity adaptive mechanisms, including all elements of the hemostatic system. Insemination onset of fruit in their bodies inevitably affects the performance of blood, including the rheological properties and formed elements on hemostasis and accompanied by adequate changes in all systems of the body, providing the adaptation of animals to the prevailing physiological conditions. Cows during pregnancy there is a weakening of the platelet and plasma hemostasis largely balanced state of the hemostatic activity of vessels. For sows during pregnancy characterized by similar changes in these indicators. Undoubtedly, revealed the dynamics of hemostasis in both types of productive animals are part of their adaptation of the body for pregnancy, necessary for the growth and development of the fruit and the birth of healthy offspring.

Keywords: cattle, pigs, blood, hemostasis, pregnancy.

Оптимальное протекание беременности у продуктивных животных во многом связано с динамикой реологических и гемостатических свойств их крови, в значительной мере влияющей на процесс развертывания наследственной программы животного [3]. Эффективное функционирование системы гемостаза в течение этого физиологического этапа во многом обеспечивает жидкостные свойства крови и регулирует уровень ее притока к матке и плаценте [1, 2].

Стебельность и супоросность является у коров и свиноматок важным этапом их онтогенеза и требует адекватной активности приспособительных механизмов, в том числе всех элементов системы гемостаза [4,6]. Осеменение и последующая перестройка организма, связанная с беременностью, у них сказывается на показателях крови, в т.ч. на реологических свойствах форменных элементов и на гемостазе и сопровождается адекватными

изменениями во всех системах организма, обеспечивая адаптацию животных к сложившимся физиологическим условиям [7-9].

Не вызывает сомнения, что в этих процессах весьма велика роль тромбоцитов, сосудистой стенки и системы коагуляции, тесно функционально связанных между собой и определяющих агрегатное состояние крови у беременных коров и свиней. Однако, несмотря на значимость этих показателей, возрастные аспекты динамики активности гемостаза у коров и свиноматок от оплодотворения до родов изучены слабо, что требует серьезной оценки у них состояния тромбоцитарного, сосудистого и коагуляционного компонентов гемостаза.

В связи со сказанным, в настоящей работе была поставлена цель: выявить состояние основных физиологических механизмов гемостаза у здоровых коров и свиноматок в течение беременности, содержащихся в хозяйствах Костромской области.

Материалы и методы исследований

В хозяйствах Костромской области под наблюдение взято 42 стельных коровы костромской породы, которые осматривались и обследовались 3 раза: при оплодотворении, на 170-е и 270-е сутки стельности. Также обследовано 35 супоросных свиноматок породы дюрок при оплодотворении, на 40-е и 100-е сутки супоросности.

Тромбоцитарная активность у животных оценивалась по агрегации тромбоцитов (АТ) [10] с применением в качестве индукторов АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М.), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125 ед/мл.), ристомицина (0,8 мг/мл), H_2O_2 ($7,3 \times 10^{-3}$ М), адреналина ($5,0 \times 10^{-6}$ М) и комбинаций индукторов: АДФ и адреналина; АДФ и коллагена; коллагена и адреналина; в аналогичных концентрациях со стандартизированным количеством тромбоцитов в исследуемой плазме 200×10^9 тр.

Метаболизм эндогенной арахидоновой кислоты (АА) в тромбоцитах животных и функциональная активность их циклооксигеназы (ЦО) и тромбоксансинтетазы (ТС) определялись в трех пробах переноса с регистрацией агрегации тромбоцитов на фотоэлектроколориметре. Осуществлялась количественная оценка содержания в тромбоцитах АТФ и АДФ, оценка выраженности их секреции под действием индуктора (коллагена) с выявлением особенностей белкового состава цитоскелета кровяных пластинок (актина и миозина).

Гемостатические свойства сосудистой стенки определялись по ее антиагрегационной активности, регистрируемой по АТ до и после временной венозной окклюзии со всеми индукторами и их сочетаниями путем вычисления индекса антиагрегационной активности стенки сосуда (ИААСС) в ходе деления длительности АТ на фоне венозного застоя на время возникновения АТ без него [6].

Активность антитромбина III (АТ III) у наблюдаемых животных выявляли до и после временной венозной окклюзии с вычислением индекса антикоагуляционной активности стенки сосудов (ИАКАСС) путем деления активности АТ III на фоне венозной окклюзии на ее активность без неё.

Уровень контроля сосудистой стенки над фибринолитической способностью плазмы крови оценивалось по динамике спонтанного эуглобулинового лизиса до и после временной венозной окклюзии по индексу фибринолитической активности сосудистой стенки (ИФАСС), вычисляемому путем деления времени эуглобулинового лизиса до окклюзии на время лизиса после неё.

Функциональные возможности коагуляционного гемостаза регистрировали по функциональной способности факторов свертывания (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII), длительности активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового (ПВ) и тромбинового времени (ТВ) стандартными методами.

Все результаты исследования были обработаны критерием (td) Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В крови у коров в течение всей стельности регистрировалось нормальное количество тромбоцитов. На момент осеменения у коров время развития АТ под влиянием коллагена составляло $26,5 \pm 0,12$ с, достоверно удлиняясь к 270-м суткам стельности до уровня $38,8 \pm 0,04$ с. Аналогичная динамика АТ у наблюдаемых коров отмечена под влиянием АДФ (к 270 суткам стельности $39,8 \pm 0,18$ с) и ристомицина (к 270 суткам стельности $52,6 \pm 0,22$ с), несколько замедленно развивалась тромбиновая (к 270 суткам стельности $56,2 \pm 0,11$ с) и адреналиновая (к 270 суткам стельности $99,2 \pm 0,25$ с) АТ. Агрегация тромбоцитов со всеми испытанными физиологическими сочетаниями индукторов у наблюдаемых коров также претерпела торможение в течение всей стельности.

В крови у здоровых супоросных свиноматок также отмечено нормальное число тромбоцитов. На момент осеменения у них время развития АТ под влиянием коллагена составляло $26,0 \pm 0,13$ с, испытывая плавное торможение к 100-м суткам супоросности ($39,2 \pm 0,12$ с). Аналогичная динамика АТ у наблюдаемых поросят отмечена под влиянием АДФ (на 100-е сутки супоросности $42,5 \pm 0,17$ с) и ристомицина (на 100-е сутки супоросности $57,5 \pm 0,22$ с), несколько замедленно развивалась тромбиновая (на 100-е сутки супоросности $59,7 \pm 0,29$ с) и адреналиновая (на 100-е сутки супоросности $107,5 \pm 0,29$ с). АТ со всеми испытанными физиологическими сочетаниями индукторов у наблюдаемых свиноматок также испытывала торможение в течение всей супоросности.

Весьма физиологически значимым механизмом, обеспечивающим процесс реализации АТ у стельных коров, является найденное у них выраженное ослабление интенсивности

обмена АА в кровяных пластинках с понижением тромбосанообразования, о чем косвенно можно было судить по АТ в простой пробе переноса (на 270 сутки стельности $34,2 \pm 0,11\%$). Данная динамика обеспечивалась эпизодом усиления у них активности обоих ферментов ее превращения в тромбоцитах – ЦО и ТС, возвращающейся к исходному к концу стельности. Степень восстановления АТ в коллаген-аспириновой пробе, косвенно оценивающей активность ЦО в тромбоцитах, понижалась к 270 суткам стельности до $72,1 \pm 0,17\%$. Выраженность восстановления АТ в коллаген-имидазольной пробе, позволяющей косвенно определить функциональную активность ТС в кровяных пластинках, снижалась у коров к 270 суткам стельности до $34,2 \pm 0,09\%$.

У супоросных свиноматок также найдено плавное ослабление интенсивности обмена АА в кровяных пластинках, о чем косвенно можно было судить по понижению агрегации тромбоцитов в простой пробе переноса (на 100 сутки супоросности $38,1 \pm 0,18\%$). Данная плавная динамика обеспечивалась постепенным ослаблением у них активности обоих ферментов ее превращения в тромбоцитах – ЦО и ТС. Степень восстановления АТ в коллаген-аспириновой пробе, косвенно оценивающей активность ЦО в тромбоцитах, понижалась к 100-м суткам супоросности до $68,5 \pm 0,25\%$. Выраженность восстановления агрегации тромбоцитов в коллаген-имидазольной пробе, позволяющей косвенно определить функциональную активность ТС в кровяных пластинках, понижалась у свиноматок к 100-м суткам супоросности ($60,2 \pm 0,22\%$).

Изначально невысокое содержание АТФ и АДФ в тромбоцитах коров в момент осеменения достоверно снижалось к 270 суткам стельности до $5,52 \pm 0,10$ мкмоль/ 10^9 тр. и $3,45 \pm 0,09$ мкмоль/ 10^9 тр., соответственно. При этом, их уровень секреции из тромбоцитов испытывал аналогичную динамику, составляя к концу стельности $34,2 \pm 0,07\%$ и $42,2 \pm 0,08\%$, соответственно.

Невысокое содержание АТФ и АДФ в тромбоцитах свиноматок в течение всей супоросности испытывало снижение, достигая к 100-м суткам супоросности $5,22 \pm 0,14$ мкмоль/ 10^9 тр. и $3,12 \pm 0,08$ мкмоль/ 10^9 тр., соответственно. При этом, их уровень секреции из тромбоцитов испытывал аналогичную тенденцию к понижению, составляя к концу супоросности $27,4 \pm 0,05\%$ и $40,0 \pm 0,07\%$, соответственно.

Содержание актина и миозина в интактных тромбоцитах у коров в день осеменения достигало $47,8 \pm 0,22\%$ и $18,9 \pm 0,14\%$ к общему белку в тромбоците, достоверно снижаясь к 270 суткам стельности до $36,1 \pm 0,09\%$ и $14,2 \pm 0,11\%$ к общему белку в тромбоците.

Уровень актина и миозина в интактных тромбоцитах у свиноматок при осеменении составлял $37,0 \pm 0,21\%$ и $18,4 \pm 0,13\%$ к общему белку в тромбоците, испытывая снижение в течение супоросности до $30,5 \pm 0,16\%$ и $12,1 \pm 0,07\%$ к общему белку в тромбоците.

У здоровых стельных коров отмечен высокий уровень контроля сосудистой стенкой над АТ. Наиболее высокий ИААСС регистрировался с АДФ. Несколько меньший уровень ИААСС выявлен с коллагеном и адреналином. ИААСС для тромбина и ристомицина в абсолютных значениях были несколько ниже. ИААСС при сочетании индукторов также оказались достаточно высоки.

У свиноматок в течение супоросности отмечено плавное нарастание контроля сосудистой стенкой над АТ. Наиболее высокий ИААСС регистрировался с АДФ. Несколько меньший уровень ИААСС выявлен с коллагеном и адреналином. ИААСС для тромбина и ристомицина в абсолютных значениях были несколько ниже. ИААСС при сочетании индукторов также оказались достаточно высоки и испытывали наклонность к усилению в течение наблюдения.

У стельных коров установлено нарастание продукции эндотелиоцитами одного из основных антикоагулянтов - антитромбина III (ИАКАСС к 270 суткам стельности составлял $1,49 \pm 0,20$). Кроме того, у них в эти сроки найдено повышение интенсивности секреции тканевых активаторов плазминогена, выявляемое при создании временной ишемии венозной стенки.

У супоросных свиноматок найдено плавное увеличение продукции эндотелиоцитами антитромбина III (ИАКАСС к 100-м суткам супоросности составлял $1,52 \pm 0,24$). Кроме того, у свиноматок в течение супоросности найдено постепенное повышение интенсивности секреции тканевых активаторов плазминогена (на 15,8%), выявляемое при создании временной ишемии венозной стенки.

У стельных коров отмечена стойкая закономерность в динамике активности факторов коагуляции. Так, при осеменении у коров регистрировалась средняя активность факторов свертывания. На 270 сутки стельности у них отмечено достоверное понижение содержания фибриногена и факторов II, VII, IX, X, XI, XII на фоне стабильности V и VIII факторов.

У свиноматок в течение супоросности выявлено плавное понижение активности факторов коагуляции. Так, при осеменении у них регистрировалась средняя активность факторов свертывания. На 100-е сутки супоросности у свиноматок отмечено значимое понижение содержания фибриногена и факторов II, VII, IX, X, XI, XII на фоне стабильности V и VIII факторов.

Оценка коагуляционных тестов у стельных коров выявило закономерную их динамику, отражающую изменения содержания в их плазме отдельных факторов свертывания. Так, к 270 суткам стельности установлено увеличение АПТВ до $42,8 \pm 0,29$ с, протромбинового времени до $16,7 \pm 0,20$ с и тромбинового времени, затормозившегося на 18,9%.

Мониторинг коагуляционных тестов у свиноматок в течение супоросности раскрыл их динамику, отражающую изменения содержания в их плазме отдельных факторов свертывания. Так, к 100-м суткам супоросности установлено замедление АПТВ до $45,6 \pm 0,25$ с, протромбинового времени до $18,8 \pm 0,16$ с и тромбинового времени, затормозившегося на 20,6%.

Важной интегративной системой организма коров и свиноматок по праву считается система гемостаза [5]. Именно от оптимальной ее активности в течение всего онтогенеза во многом зависят реологические свойства крови и, тем самым, гомеостаз организма. При этом, активность тромбоцитарного, сосудистого и коагуляционного гемостаза и тонкие механизмы его реализации у них в течение беременности изучена недостаточно.

Выявление способности к агрегации тромбоцитов под действием ряда индукторов и большого числа их физиологических сочетаний позволило установить у беременных самок обоих видов продуктивных животных постепенное понижение уровня чувствительности к ним тромбоцитов. Выяснено, что на фоне беременности аналогичную динамику испытывает у обоих видов животных адгезивная способность кровяных пластинок, вероятно, вследствие снижения концентрации в их крови фактора Виллебранда (ФВ)– кофактора адгезии тромбоцитов, видимо, сочетающегося с понижением числа рецепторов к нему – (GPI в) на поверхности кровяных пластинок. Соединяясь одним концом молекулы с коллагеном, а другим с тромбоцитом через гликопротеид Ib, ФВ формирует „ось адгезии”: коллаген – ФВ – GPIв. Это позволяет заподозрить уменьшение числа этих рецепторов на тромбоцитарных мембранах у стельных коров и супоросных свиноматок.

Снижение у коров и свиноматок чувствительности тромбоцитов к различным агонистам агрегации и их сочетаниям в течение беременности, вероятно, связаны со снижением интенсивности повышения экспрессии фибриногеновых рецепторов (GPIв-IIIа), уровня стимуляции фосфолипаз A_2 и C, тромбоксанообразования, актино- и миозинообразования и секреции аденозинфосфатов из кровяных пластинок.

Установленное при этом усиление антиагрегационной активности стенки сосудов у коров и свиноматок объясняется наступающим у них повышением синтеза в ней простациклина и NO, обеспечивающим необходимый уровень микроциркуляции в тканях растущего животного в ответ на процессы, идущие в тромбоцитах.

Видная роль в обеспечении атромбогенных свойств сосудистой стенки у коров и свиноматок в течение беременности принадлежит выраженности ее антикоагулянтных и фибринолитических свойств. Первые обуславливаются разной выраженностью усиления активной выработки в эндотелии и субэндотелии одного из мощнейших физиологических антикоагулянтов – АТ- III. Другой антитромбогенный механизм сосудистой стенки

заклучается в нарастании в течение беременности у коров и свиноматок образования в ней активаторов плазминогена, что устраняет излишки образующего фибрина.

Невыраженная коагуляционная активность плазмы у коров и свиноматок в течение беременности связана с понижением активности I, II, VII, IX, X, XI и XII факторов, реализующих оба пути коагуляции, что подтверждалось явлениями торможения АПТВ, ПТВ и ТВ.

Таким образом, оценка состояния системы гемостаза у стельных коров и супоросных свиноматок указывает на наличие закономерной динамики у них активности отдельных его компонентов по мере увеличения срока беременности. Выявленный характер изменений активности у них в течение данного физиологического этапа гемостаза у коров и свиноматок носит физиологический характер, обеспечивая необходимые жидкостные свойства крови и, тем самым, способствуя росту и развитию плодов.

Список литературы

1. Белова Т.А., Завалишина С.Ю., Нагорная О.В., Медведев И.Н. Способность к агрегации эритроцитов и тромбоцитов у молодняка крупного рогатого скота в первые 10 суток жизни. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2014. № 2. С. 36-41.
2. Завалишина С.Ю. Тромбоцитарная активность у телок на дорастивании // Международный вестник ветеринарии.–2015.–№2.– С.60-64.
3. Кутафина Н.В., Медведев И.Н. Динамика физиологических показателей телят в раннем онтогенезе // Зоотехния.–2015.–№3.– С.25-27.
4. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю. Возрастная динамика гемостатической активности сосудов у телят в течение раннего онтогенеза // Ветеринария. –2014.– №2.– С.46-49.
5. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю. Особенности системы гемостаза у коров в течение стельности // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. –2014.– №6.– С.44-47.
6. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Глаголева Т.И. Агрегация форменных элементов крови и сосудистый контроль над нею у телят растительного питания // Современные проблемы науки и образования.–2015.–№1.
7. Медведев И.Н., Глаголева Т.И. Способность основных форменных элементов крови к агрегации у телят в фазу молочного питания // Зоотехния.–2015.–№7.–С.23-24.

8. Медведев И.Н., Кутафина Н.В. Функциональные характеристики тромбоцитов и эритроцитов у крупного рогатого скота // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015.– №8.–С.24-36.
9. Медведев И.Н., Парахневич А.В., Завалишина С.Ю., Кутафина Н.В. Физиологические особенности микрореологических свойств эритроцитов у поросят молочного питания, находящихся в условиях негативных влияний // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015.–№10.–С.30-37.
10. Medvedev I.N., Zavalishina S.Yu. Navi attivita emostatico vitelli centrale elettrica // Italian Science Review. – 2014.– №3.– С.174.

Рецензенты:

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

Ватников Ю.А., д.вет.н., профессор, директор департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва.