

## **ВОЗМОЖНОСТИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПО КОНТРОЛЮ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ С АНЕМИЕЙ**

**И.Н. Медведев, Е.Г. Краснова**

*Курский институт социального образования (филиал) РГСУ  
г. Курск, ул. Карла Маркса, 53 Тел.: +7(4712) 56-24-60*

Функциональные возможности сосудистой стенки разноплановы в виду ее тесной связи с другими системами, органами, влияющими на агрегатное состояние крови. Непрерывное изучение факторов стенки сосудов постоянно углубляет научные представления о механизмах ее регуляции при различных физиологических состояниях, открывая возможности прогнозирования сосудистых нарушений у сельскохозяйственных животных. При развитии различных патологических состояниях может страдать синтез различных гемостатически активных субстанций эндотелиоцитами, таких как простациклин, антитромбин - III, тканевые активаторы плазминогена, фактор Виллебранда.

Анемия у новорожденных поросят в настоящее время рассматривается как одно из наиболее часто встречающихся патологических состояний в хозяйствах различных форм собственности [3], приводящих к задержке роста и развития животных, ослаблению их резистентности, обуславливая возникновение различных инфекционных процессов и нередко гибели животного [2, 6, 9].

Выявлено, что при анемии могут развиваться нарушения функций сосудов с возникновением склонности к тромбообразованию, что ведет у животных к ухудшению микроциркуляции и может обуславливать фатальные тромбозы. Манефестирование анемии у поросят снижает резистентность их растущих организмов, неизбежно влияя на состояние сосудистой стенки за счет ухудшения ее трофики. Это приводит к дистрофии эндотелия и остальных компонентов стенки сосудов с ослаблением генерации ее антитромботических факторов [3, 9].

Цель работы – определить нарушения антиагрегационной активности сосудистой стенки у новорожденных поросят с анемией.

### **Материалы и методы.**

Под наблюдением находились 121 новорожденный поросенок с анемией. Взятые в исследование животные были под постоянным наблюдением. Перед каждым

*Дата поступления: 24.04.2008*

исследованием у новорожденных поросят определяли их общее состояние, проводили морфологический и биохимический анализы крови. У находящихся в исследовании больных анемией поросят найдено нарушение эритропоэза с признаками снижения уровня содержания железа в их организме, сопровождаясь изменением показателей крови. При этом, количество гемоглобина у них снижалось до  $84,4 \pm 0,90$  г/л, эритроцитов — до  $4,21 \pm 0,15 \times 10^{12}$ /л, сидероцитов до  $1,5 \pm 0,21\%$ , исчезая у некоторых животных из периферической крови при резком уменьшении железа в сыворотке до  $13,6 \pm 0,45$  мкмоль/л и нарастанием общей железосвязывающей способности сыворотки крови до  $68,6 \pm 2,42$  мкмоль/л. Группа контроля представлена 27 здоровыми новорожденными поросятами.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы регистрировали по содержанию ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО „Агат-Мед”, ацилгидроперекисей (АГП) [5] и антиокислительному потенциалу жидкой части крови [4]. Активность обмена арахидоновой кислоты (АА) в тромбоцитах оценивалась по трем пробам переноса с определением агрегации тромбоцитов (АТ) на фотоэлектроколориметре по [8]. В простой пробе выявляли уровень синтеза тромбоксана, в коллаген-аспириновой - активность циклооксигеназы (ЦО), а по коллаген-имидазальной судили об активности тромбоксансинтетазы (ТС) [7]. Подсчет количества тромбоцитов в капиллярной крови производился в камере Горяева [10]. Агрегационная способность тромбоцитов исследовалась визуальным микрометодом [11] по Шитиковой А.С. (1999) с использованием в качестве индукторов АДФ ( $0,5 \times 10^{-4}$  М.), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125 ед/мл.), ристомидина (0,8 мг/мл.) (НПО „Ренам”), адреналина ( $5 \times 10^{-6}$  М., завод Гедеон Рихтер А.О.) и перекиси водорода ( $7,3 \times 10^{-3}$  М.), а также сочетания АДФ и адреналина, АДФ и коллагена, адреналина и коллагена для моделирования реальных условий кровотока. Внутрисосудистая активность стенки (ВАТ) сосуда определялась с фазовым контрастом по Шитиковой А.С. и соавт. (1997). Антиагрегационная активность стенки сосуда выявлялась по влиянию на АТ со всеми использованными индукторами, ВАТ и на уровень обмена АА в тромбоцитах по Балуда В.П. и соавт. (1983) на фоне временной венозной окклюзии с расчетом индекса антиагрегационной активности сосудистой стенки (ИААСС). Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента.

#### **Результаты исследования.**

*Дата поступления: 24.04.2008*

У новорожденных поросят с анемией выявлено усиление ПОЛ плазмы. Так, концентрация ТБК-активных продуктов в их плазме составила  $5,47 \pm 0,03$  мкмоль/л. (в контроле –  $3,34 \pm 0,05$  мкмоль/л.) при уровне АГП в плазме больных поросят  $3,31 \pm 0,05$  Д<sub>233</sub>/1 мл. (в контроле  $1,49 \pm 0,02$  Д<sub>233</sub>/1 мл.). Найденная активация ПОЛ в плазме у больных животных развивалась вследствие ослабления антиоксидантной активности плазмы –  $20,3 \pm 0,10\%$  (в контроле –  $34,8 \pm 0,11\%$ ).

Биохимические изменения, характерные для анемии, вызывали усиление образования тромбоксана из арахидоновой кислоты в тромбоцитах. Так, в простой пробе переноса косвенно оценивали уровень синтеза тромбоксана в кровяных пластинках больных поросят –  $60,7 \pm 0,06\%$  (в контроле –  $35,1 \pm 0,03\%$ ). Это произошло из-за активации циклооксигеназы, выявленной по повышению восстановления АТ в коллаген-аспириновой пробе –  $90,2 \pm 0,05\%$  и тромбоксансинтетазы, определенной по усилению восстановления АТ в коллаген-имидазольной пробе –  $83,5 \pm 0,10\%$ . У здоровых поросят аналогичные показатели составили  $66,3 \pm 0,01$  и  $56,6 \pm 0,02\%$ , соответственно.

Торможение АТ у больных поросят после венозной окклюзии в простой пробе переноса составляло всего 1,25 раза (в контроле – 1,48 раза). Восстановление АТ в коллаген-аспириновой пробе при венозной окклюзии косвенно-оценивало активность ЦО в тромбоцитах под действием антиагрегирующих субстанций стенки сосуда, составляло у поросят с анемией  $73,7 \pm 0,03\%$  с торможением активности фермента в 1,22 раза (в контроле это составляло в 1,50 раза). Степень восстановления АТ в коллаген-имидазольной пробе при временной ишемии стенки сосуда у больных животных была ниже контроля в 1,29 раза.

Содержание тромбоцитов в крови поросят с анемией было в пределах нормы. У них без венозной окклюзии отмечалось ускорение АТ, более значимое под влиянием коллагена –  $22,2 \pm 0,02$  с. (в контроле –  $33,2 \pm 0,04$  с.). Медленнее АТ развивалась под действием АДФ ( $25,4 \pm 0,02$  с.) и ристомицина ( $24,8 \pm 0,12$  с.). АТ с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у больных составила  $24,4 \pm 0,01$ с. Тромбиновая и адреналиновая АТ наступали также ранее, чем в контроле  $38,5 \pm 0,02$  с. и  $66,5 \pm 0,01$  с., соответственно ( $P < 0,01$ ). Время возникновения АТ на фоне сочетания индукторов было также укороченным: АДФ+адреналин –  $19,1 \pm 0,02$ с., АДФ+коллаген –  $16,7 \pm 0,13$  с., адреналин+коллаген –  $12,2 \pm 0,05$ с.

При венозной окклюзии у новорожденных поросят с анемией АТ замедлялась в большей мере на адреналине - ИААСС  $1,32 \pm 0,05$  (в контроле –  $1,65 \pm 0,06$ ). Несколько меньший ИААСС зарегистрирован на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( $1,3 \pm 0,23$ ), ристомицин ( $1,23 \pm 0,16$ ) и АДФ

*Дата поступления: 24.04.2008*

( $1,21 \pm 0,07$ ). ИААСС для тромбиновой и коллагеновой АТ были еще более снижены –  $1,2 \pm 0,15$  и  $1,19 \pm 0,12$ , соответственно, при этом значения индексов агрегационной активности сосудистой стенки при сочетании индукторов были также ниже контроля: для АДФ+адреналин  $1,27 \pm 0,04$ , АДФ+коллаген –  $1,28 \pm 0,02$ , адреналин+коллаген –  $1,19 \pm 0,14$ .

У новорожденных поросят с анемией установлено достоверное снижение ИААСС по сравнению со здоровыми животными, что определялось ослаблением выработки в стенках сосудов антиагрегантов и в первую очередь простаглицлина.

Установлена у больных поросят уменьшение ограничения ВАТ со стороны стенки сосуда при временной венозной окклюзии (табл.). Дислоциты в крови больных поросят до компрессии составили –  $51,3 \pm 0,02\%$  (в контроле –  $82,6 \pm 0,13\%$ ). Количество дискоэритроцитов было увеличено в 3 раза ( $28,4 \pm 0,13\%$ ). Уровень в кровотоке сфероцитов, сфероэритроцитов и биполярных форм тромбоцитов также значительно превышал контрольные значения и достигало у больных животных  $15,1 \pm 0,04\%$ ,  $3,6 \pm 0,02\%$  и  $1,6 \pm 0,01\%$ , соответственно. Сумма активных форм тромбоцитов больных поросят была равна  $48,7 \pm 0,07\%$ , (в контроле –  $17,4 \pm 0,11\%$ ). Агрегатов малых и больших размеров в крови новорожденных поросят с анемией содержалось –  $18,3 \pm 0,14$  и  $5,01 \pm 0,02$ , в контроле –  $3,13 \pm 0,02$  и  $0,14 \pm 0,03$ , соответственно, причем количество тромбоцитов в агрегатах у больных достигало  $14,4 \pm 0,13\%$ , против  $7,1 \pm 0,12\%$  в контроле, что говорит о повышении у больных ВАТ.

В результате венозной окклюзии содержание дискоидных форм тромбоцитов в крови поросят с анемией достигла  $64,2 \pm 0,07\%$  (в контроле –  $94,4 \pm 0,17\%$ ). Количество дискоэритроцитов уменьшалось до  $18,7 \pm 0,11\%$  при снижении содержания в крови сфероцитов, сфероэритроцитов и биполярных форм тромбоцитов, однако достоверно превышая контрольные значения. Сумма активных форм тромбоцитов больных животных при венозном застое была равна  $35,8 \pm 0,04\%$ . Малых и больших агрегатов в их кровотоке на фоне венозной окклюзии содержалось –  $14,5 \pm 0,13$  и  $3,8 \pm 0,11$ , в контроле –  $2,1 \pm 0,7$  и  $0,02 \pm 0,005$ , соответственно. Содержание тромбоцитов в агрегатах у больных поросят на фоне временной ишемии стенки сосуда составляло  $11,5 \pm 0,3\%$ , против  $4,53 \pm 0,16\%$  в контроле, что говорит о недостаточности влияния сосудистой стенки на ВАТ у новорожденных поросят с анемией.

#### **Обсуждение.**

Патологические процессы в организме поросят, связанные с анемией, носят сложный характер и сопровождаются развитием тромбоцитопатии с ослаблением

*Дата поступления: 24.04.2008*

функций сосудистой стенки [1]. Дисфункция сосудистой стенки влечет за собой активизацию тромбоцитов, что в совокупности с другими обменными нарушениями, свойственными для анемии, способствует ослаблению антиагрегационной активности стенки сосудов, приводя к росту АТ. Активная агрегация тромбоцитов под влиянием различных индукторов *in vitro* указывает на высокую активность тромбоцитов *in vivo*. Одним из важнейших механизмов этого усиления является активация в кровяных пластинках тромбоксанообразования, зарегистрированного в пробах переноса. Кроме того, отмечается рост концентрации участвующего в процессе агрегации фактора Виллебранда, косвенно выявленного по ускорению АТ с ристомидином. Одновременно с этим, в стенке сосуда происходит ослабление обмена арахидоновой кислоты с сокращением образования главного антагониста тромбоксана, вазодилатора и антиагреганта – простаглицина.

Оценка АТ с сочетанием двух индукторов агрегации позволяет приблизить наше представление о состоянии тромбоцитарного гемостаза у новорожденных поросят с анемией к реально возникающему в их кровяном русле агрегационному процессу, контролируемому сосудистой стенкой.

Одновременное влияние нескольких индукторов на процесс АТ без венозной окклюзии и на ее фоне у новорожденных поросят с анемией выявило взаимопотенцирующее действие агонистов на тромбоциты при их низкой чувствительности к дезагрегирующим сигналам сосудистой стенки в реальных условиях кровотока. Слабое воздействие сосудистой стенки на АТ при сочетании индукторов на фоне ее временной ишемии свидетельствует о высоком риске тромбообразования у новорожденных поросят с анемией.

Таким образом, у новорожденных поросят с анемией отмечается достоверное ослабление антиагрегационной активности сосудистой стенки при оценке ее *in vitro* и *in vivo*.

### **Заключение**

У новорожденных поросят с анемией выявлено повышение агрегационной функций тромбоцитов и снижение антиагрегационной способности стенки сосуда. В основе найденных нарушений лежит усиление перекисного окисления липидов плазмы, рост синтеза в стенке сосудов фактора Виллебранда и ослабление простаглицинообразования. Все эти нарушения можно считать ведущими причинами повышения тромбогенной опасности у новорожденных поросят с анемией.

### Список литературы.

1. Балуда В.П., Лукьянова Т.И., Балуда М.В. Метод определения антиагрегационной активности стенки сосудов человека.// Лабораторное дело.-1983.-№6.-с.17-20.
2. Батраков А.Я., Травкин О.В., Яковлева Е.В. Профилактика алиментарной анемии у поросят. //Ветеринария.-2005.-№12.-с.44-47.
3. Брылин А.П., Бойко А.В., Волкова М.Н. Сохранность новорожденных поросят.//Ветеринария.-2006.-№3.-с.12-15.
4. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск. 2000.-167 с.
5. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. // Лабор. дело. 1983.-№3.-с. 33-36.
6. Деева А.В., Салахова З.А., Лобова Т.П. и др. Повышение сохранности и продуктивности поросят при использовании фосфренила и гамавита. //Ветеринария.-2006.-№4.-с.13-16.
7. Ермолаева Т.А., Головина О.Г., Морозова Т.В. и др. Программа клинико-лабораторного исследования больных тромбоцитопатиями. СПб.:1992.-25 с.
8. Захария Е.А., Кипах М.В. Упрощенный способ определения агрегации и дезагрегации тромбоцитов. // Лабор. дело 1989.-№1.-с. 36-38.
9. Карпуть И.М., Николадзе М.Г. Диагностика и профилактика алиментарных анемий у поросят. //Ветеринария.-2003.-№4.-с.34-36.
10. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Минск „Беларусь”-1982.
11. Шитикова А.С. Визуальный микрометод исследования агрегации тромбоцитов в кн. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм

геморрагических заболеваний. Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. СПб.: 1999.-с.43-45.

12. Шитикова А.С., Тарковский Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации и его значение в клинической практике. // Клиническая лабораторная диагностика. 1997.- №2.-с.23-35.

**Таблица. Внутрисосудистая активность тромбоцитов у новорожденных поросят с анемией**

<b>Параметры</b>	<b>Больные <i>n = 121, M ± m</i></b>	<b>Контроль <i>n = 27, M ± m</i></b>
Дискоциты, %	51,3 ± 0,02	82,6 ± 0,13 P < 0,01
Дискоциты на фоне венозной окклюзии, %	64,2 ± 0,05	94,4 ± 0,17 P < 0,01
Диско-эхиноциты, %	28,4 ± 0,13	12,5 ± 0,12 P < 0,01
Диско-эхиноциты на фоне венозной окклюзии, %	18,7 ± 0,11	2,25 ± 0,14 P < 0,01
Сфероциты, %	15,1 ± 0,04	2,4 ± 0,01 P < 0,01
Сфероциты на фоне венозной окклюзии, %	12,6 ± 0,05	1,64 ± 0,07 P < 0,01
Сферо-эхиноциты, %	3,6 ± 0,02	1,6 ± 0,07 P < 0,01
Сферо-эхиноциты на фоне венозной окклюзии, %	3,2 ± 0,03	1,2 ± 0,02 P < 0,01
Биполярные формы, %	1,6 ± 0,01	0,9 ± 0,02 P < 0,01
Биполярные формы на фоне венозной окклюзии, %	1,3 ± 0,2	0,51 ± 0,05 P < 0,01
Сумма активных форм, %	48,7 ± 0,07	17,4 ± 0,11 P < 0,01
Сумма активных форм на фоне венозной окклюзии, %	35,8 ± 0,04	5,6 ± 0,60 P < 0,01
Число тромбоцитов в агрегатах, %	14,4 ± 0,13	7,1 ± 0,12 P < 0,01
Число тромбоцитов в агрегатах на фоне венозной окклюзии, %	11,5 ± 0,3	4,53 ± 0,16 P < 0,01
Число малых агрегатов по 2-3 тромбоцита на 100 свободнолежащих тромбоцитов.	18,3 ± 0,14	3,13 ± 0,02 P < 0,01

Дата поступления: 24.04.2008

Число малых агрегатов по 2-3 тромбоцита на 100 свободнолежащих тромбоцитов на фоне венозной окклюзии, %.	14,5±0,13	2,1±0,20 P<0,01
Число средних и больших агрегатов, 4 и более тромбоцита на 100 свободнолежащих тромбоцитов.	5,01±0,02	0,14±0,03 P<0,01
Число средних и больших агрегатов, 4 и более тромбоцита на 100 свободнолежащих тромбоцитов на фоне венозной окклюзии, % .	3,8±0,11	0,02±0,005 P<0,01