ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ТРОМБОЦИТОВ У ПОРОСЯТ В ТЕЧЕНИЕ ФАЗЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА

С.Ю. Завалишина¹, доктор биологических наук, Е.С. Ткачева²

¹Российский государственный социальный университет,
129226, Москва, ул. Вильгельма Пика, 4, стр. 1

²Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н. В. Верещагина,
160555, ул. Шмидта, 2, село Молочное
E-mail: elfenia@mail.ru

Тромбоцитарный гемостаз – важный механизм сохранения равновесия в организме животного. Уровень его активности определяет реологию крови в капиллярах и состояние обмена веществ. От функциональной активности тромбоцитов зависят рост и развитие поросят. Поэтому большое значение имеют исследования возрастной динамики тромбоцитарной активности в конце раннего онтогенеза. В проведенном исследовании установлено, что у поросят растительного питания отмечается усиление агрегационной способности тромбоцитов (агрегация ускорялась с АДФ с $34,1 \pm 0,12$ до $27,6 \pm 0,12$ с, с коллагеном с $24,7 \pm 0,08$ до $17,5 \pm 0,10$ с, с тромбином с $36,5 \pm 0,08$ до $28,4 \pm 0,12$ с). Основная причина этого является интенсификация работы рецепторных и пострецепторных механизмов тромбоцитов. В основе выявленного повышения их активности у поросят на протяжении всей работы во многом лежало усиление синтеза тромбоксана в тромбоцитах (с $48,5 \pm 0,05$ до $59,8 \pm 0,09\%$) за счет нарастания активности в них циклооксигеназы (с $78,4 \pm 0,06$ до $89,8 \pm 0,12\%$) и тромбоксансинтетазы (с $69,2 \pm 0,07$ до $81,5 \pm 0,07\%$) и активации секреции из них АДФ (с $46,0 \pm 0,13$ до $56,9 \pm 0,15\%$).

PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF THROMBOCYTES IN PIGLETS DURING PHASE OF PLANT NUTRITION EARLY ONTOGENY

Zavalishina S.Yu. ¹, Tkacheva E.S. ²

¹Rossiiskij gosudarstvennyj social'nyj universitet,
129226, Moskva, ul. Vil'gel'ma Pika, 4, str. 1,

²Vologodskaya gosudarstvennaya molochno-hozyajstvennaya akademiya imeni N. V. Vereshchagina,
160555, ul. Shmidta, 2, selo Molochnoe
E-mail: elfenia@mail.ru

A very important mechanism for maintaining homeostasis in the animal body is platelet hemostasis. The level of his activity very strongly determines the rheology of blood in the capillaries and due to this the state of metabolism in the tissues. There is reason to believe that the growth and development of piglets depends on the level of functional activity of platelets. For this reason, studies of the age-related dynamics of platelet activity in piglets at the end of early ontogenesis are of great importance. In the study, it was found that the piglets of plant nutrition showed an increase in the aggregation capacity of platelets (aggregation of their platelets was accelerated by ADP from 34.1 ± 0.12 s to 27.6 ± 0.12 s, with collagen from 24.7 ± 0.08 s to 17.5 ± 0.10 s, with thrombin from 36.5 ± 0.08 s to 28.4 ± 0.12 s). The main reason for this may be an intensification of the work of receptor and postreceptor mechanisms of platelets. This was characteristic of piglets during the phase of plant nutrition of early ontogenesis to the same extent with respect to strong and weak inducers of platelet aggregation. The increase in thromboxane synthesis in platelets (from $48.5 \pm 0.05\%$ to $59.8 \pm 0.09\%$) was largely due to an increase in the activity of cyclooxygenase in them (from $78.4 \pm 0.06\%$ to $89.8 \pm 0.12\%$) and thromboxane synthetase (from $69.2 \pm 0.07\%$ to $81.5 \pm 0.07\%$) and activation of ADP secretion from them (from $46.0 \pm 0.13\%$ to $56.9 \pm 0.15\%$). The increase in hemostatic activity of platelets in piglets during the phase of plant nutrition of early ontogeny should be considered an important regulator of their microcirculation and metabolism in tissues under existing conditions of existence.

Ключевые слова: поросята, онтогенез, фаза растительного питания, тромбоциты, агрегация, адгезия

Key words: piglets, ontogeny, phase of plant nutrition, platelets, aggregation, adhesion

Большую значимость у продуктивных животных имеет физиология крови, которая обеспечивает интеграцию и регуляцию организма в соответствии с постоянно меняющимися условиями внешней среды [1]. Основная ее роль заключается в поддержании жизнеспособности организма за счет постоянного переноса кислорода и питательных веществ ко всем клеткам организма и удаления продуктов метаболизма [2]. Данные процессы протекают и в капиллярном русле, поэтому состояние кровотока в нем имеет большое физиологическое значение [3]. От оптимума

микроциркуляции зависят все процессы метаболизма, роста и уровень резистентности организма [4], что приводит, в конечном счете, к экономической эффективности разведения и выращивания животных [5]. Но данные вопросы о функциональной активности тромбоцитов у поросят окончательно не изучены.

Особый интерес к функциональной активности тромбоцитарного гемостаза у поросят в течение четвертой фазы раннего онтогенеза обусловлен влиянием их активности на скорость формирования структур организма и становления их функциональной

активности в ходе активного роста и созревания [6]. Данная информация может послужить основой разработки в будущем действенных подходов к интенсификации их выращивания [7].

Цель работы – оценить физиологическую динамику активности тромбоцитов у поросят в течение фазы растительного питания раннего онтогенеза.

Методика. Исследование проводили в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных, используемых в экспериментальных и других научных целях (принята в Страсбурге 18 марта 1986 года и подтверждена в Страсбурге 15 июня 2006 года).

Работа проведена на 32 здоровых поросятах породы крупная белая на 41-е сут жизни. Все поросята были получены от здоровых свиноматок 2-3 опоросом. Поросят осматривали и обследовали 6 раз: на 41-е сутки жизни, на 80-е, 120-е, 160-е, 200-е и 240-е.

В исследовании у поросят оценивали агрегацию тромбоцитов (АТ) *in vitro* визуальным микрометодом с помощью ряда индукторов: с тромбином ($0,125$ ед/мл), с АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М), с H_2O_2 ($7,3 \times 10^{-3}$ М), с коллагеном (разведение 1:2 основной суспензии), с ристомидином ($0,8$ мг/мл), с адреналином ($5,0 \times 10^{-6}$ М). Для этого использовали плазму, которую стандартизовали по содержанию тромбоцитов до уровня 200×10^9 тромбоцитов [8]. Выраженность внутрисосудистой агрегации тромбоцитов выявляли при помощи фазово-контрастного микроскопа [9].

Также в тромбоцитах, взятых на исследование, определяли интенсивность образования тромбосана и выясняли ферментативную активность тромбоцитарных ферментов его синтеза – циклооксигеназы и тромбоксансинтетазы – путем регистрации АТ в трех пробах переноса на фотоэлектроколориметре. Кроме того, в тромбоцитах всех животных оценивали количественное содержание АДФ и степень его секреции после стимуляции тромбоцитов тромбином [10].

Полученные в исследовании результаты обработаны с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В крови у обследованных поросят содержалось нормальное количество тромбоцитов. У животных на 4-е сут жизни АТ с коллагеном наступала за $24,7 \pm 0,08$ с. Длительность этого процесса постепенно сокращалась до $17,5 \pm 0,10$ с к концу фазы растительного питания (см. таблицу). Аналогичное ускорение АТ у поросят в течение наблюдения отмечено под действием АДФ, H_2O_2 , ристомидина соответственно на 23,5; 30,5 и 32,3%. Позднее развивалась АТ с тромбином (к концу фазы за $28,4 \pm 0,12$ с) и АТ с адреналином (к концу фазы за $75,2 \pm 0,14$ с).

В крови поросят растительного питания выявлено постепенное повышение количества свободно перемещающихся мелких и крупных тромбоцитарных агрегатов. Их количество в крови составило на 240 сут жизни соответственно $8,8 \pm 0,08$ и $0,56 \pm 0,011$ на 100 свободных тромбоцитов. Это сопровождалось ростом количества тромбоцитов в ходе наблюдения, вступивших в процесс агрегатообразования, на 40,6%.

По росту уровня АТ в простой пробе переноса ($48,5 \pm 0,05$ до $59,8 \pm 0,09\%$) у поросят выявлено посте-

пенное усиление в тромбоцитах интенсивности тромбоксанообразования. Это оказалось возможным в результате активации в кровяных пластинках обоих ферментов его синтеза – циклооксигеназы и тромбоксансинтетазы. Степень восстановления АТ в коллаген-аспириновой пробе, позволяющая косвенно оценить активность циклооксигеназы в тромбоцитах, нарастала за время наблюдения с $78,4 \pm 0,06$ до $89,8 \pm 0,12\%$. Выраженность восстановления АТ в коллаген-имидазольной пробе у поросят, дающая возможность выявить в кровяных пластинках активность тромбоксансинтетазы, увеличивалась за время наблюдения с $69,2 \pm 0,07$ до $81,5 \pm 0,07\%$. Это сопровождалось у поросят в течение фазы растительного питания ростом содержания в тромбоцитах АДФ (на 15,2%) и активности его секреции (на 23,7%).

Таким образом выявлено, что у здоровых поросят в течение фазы растительного питания адгезивная способность кровяных пластинок постепенно растет. В основе этого – одновременное повышение уровня в их крови фактора Виллебранда (FW), являющегося кофактором адгезии тромбоцитов, и рост числа рецепторов к нему – GPIb на мембранах. Эти процессы определяли по ускорению агрегации тромбоцитов в ответ на ристомидин, способный влиять на тромбоциты, так же как субэндотелиальные сосудистые структуры [11]. При развитии адгезии FW соединяется одним концом молекулы с коллагеном, а другим – с тромбоцитом через тромбоцитарный рецептор – гликопротеид Ib, образуя цепочку адгезии: коллаген – FW – GPIb. Выявленное ускорение АТ под действием остальных индукторов доказано повышением между 41 и 240 сут жизни количества рецепторов к ним на поверхности кровяных пластинок. Также важный механизм АТ – усиление нарастания экспрессии на мембранах фибриногеновых рецепторов (GP IIb – IIIa). При этом усиливаются каталитические свойства фосфолипидов их мембран ростом генерации на них активного фактора X и тромбина, что дополнительно стимулирует работу гемостаза.

Наращение содержания агрегатов тромбоцитов в крови у поросят в ходе фазы растительного питания доказывает усиление у них функционирования *in vivo* не только тромбоцитарных рецепторов, но и пострецепторных механизмов. В результате происходило увеличение у них активности адгезии, агрегации и секреции тромбоцитов. Функционально важными внутритромбоцитарными механизмами, способствующими росту активности тромбоцитов у поросят в течение фазы растительного питания, следует считать усиление синтеза тромбосана за счет увеличения активности ферментов его синтеза – циклооксигеназы и тромбоксансинтетазы. Это дополнялось у поросят в исследуемом возрасте ростом накопления в плотных тромбоцитарных гранулах АДФ и повышением его секреции из них.

Повышение активности тромбоцитов у поросят растительного питания следует связывать с интенсификацией функционирования в них рецепторных и пострецепторных механизмов. В этом возрасте это проявляется у них усилением тромбоцитарных адгезии,

Активность тромбоцитов у поросят растительного питания

Параметр	Фаза растительного питания, М±m, с					
	41	80	120	160	200	240
Агрегация тромбоцитов с АДФ, с	34,1±0,12	33,3±0,08	32,0±0,05*	30,1±0,06	29,1±0,09*	27,6±0,12**
Агрегация тромбоцитов с коллагеном, с	24,7±0,08	24,0±0,06	23,1±0,04	20,1±0,07*	19,3±0,09*	17,5±0,10**
Агрегация тромбоцитов с тромбином, с	36,5±0,08	35,7±0,12	34,0±0,07	32,1±0,08*	30,7±0,06*	28,4±0,12**
Агрегация тромбоцитов с H ₂ O ₂ , с	37,6±0,05	36,5±0,09	34,8±0,11	32,6±0,05*	31,0±0,06*	28,8±0,09**
Агрегация тромбоцитов с ристомидином, с	36,0±0,09	35,1±0,10	33,1±0,08	31,5±0,12*	29,9±0,09*	27,2±0,07**
Агрегация тромбоцитов с адреналином, с	86,0±0,14	84,5±0,16	82,3±0,13	80,1±0,15*		75,2±0,14**
Восстановление агрегации тромбоцитов в коллаген-аспириновой пробе, %	78,4±0,06	79,8±0,05	82,2±0,09	86,3±0,07*		89,8±0,12**
Восстановление агрегации тромбоцитов в коллаген-имидазольной пробе, %	69,2±0,07	71,2±0,08	73,8±0,09	76,2±0,05*	78,7±0,04*	81,5±0,07**
Агрегация тромбоцитов в простой пробе переноса, %	48,5±0,05	50,2±0,09	52,7±0,08	55,2±0,10*	57,7±0,06*	59,8±0,09**
Содержание АДФ в тромбоцитах, ммоль/10 ⁹ тромбоцитов	3,74±0,08	3,78±0,05	3,86±0,09	3,96±0,08	4,12±0,10*	4,31±0,08**
Степень секреции АДФ из тромбоцитов на фоне стимуляции, %	46,0±0,13	46,9±0,18	48,2±0,16	50,6±0,11	53,8±0,19*	56,9±0,15**
Число тромбоцитов в агрегатах, %	9,1±0,14	9,4±0,09	9,8±0,12	10,6±0,11*	11,6±0,08*	12,8±0,10**
Число малых агрегатов по 2-3 тромбоцита/100 свободно лежащих тромбоцитов	6,0±0,08	6,3±0,05	6,9±0,06	7,4±0,08*	7,9±0,09*	8,8±0,08**
Число средних и больших агрегатов, 4 тромбоцита и более/100 свободно лежащих тромбоцитов.	0,35±0,008	0,37±0,007	0,39±0,009	0,44±0,011*	0,48±0,009*	0,56±0,011**
*p<0,05; ** p<0,01.						

агрегации и секреции. Выявленный рост тромбоцитарной активности у поросят растительного питания следует связывать с их физиологической необходимостью поддерживать на оптимальном уровне активность микроциркуляции в тканях, которая должна соответствовать, с одной стороны, видовым особенностям животного, а с другой – действию факторов внешней среды. Усиление тромбоцитарной активности у поросят в течение фазы растительного питания нужно считать одной из видовых приспособительных реакций, регулирующих рост и развитие.

Литература.

1. Кутафина Н.В. Тромбоцитарные механизмы на фоне процессов роста у крупного рогатого скота // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2015. – №8. – С.37-42.
2. Максимов В.И., Медведев И.Н. *Основы физиологии*. Санкт-Петербург: издательство «Лань», 2013. – 288с.
3. Медведев И.Н., Кутафина Н.В. Функциональные характеристики тромбоцитов и эритроцитов у крупного рогатого скота // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2015. – №8. – С.24-36.
4. Глаголева Т.И. Онтогенетическая динамика основных гематологических показателей у крупного рогатого скота // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2016. – №5. – С.66-69.
5. Новиков А.А., Суслина Е.Н., Козырев С.А. Современное состояние и перспективы ускоренного импортозамещения в племенном свиноводстве в Российской Федерации // *Зоотехния*. – 2015. – №2. – С.2-6.
6. Корепанова Л.В., Старостина О.С., Батанов С.Д. Кровь как показатель интерьерной особенности помесных животных // *Зоотехния*. – 2015. – №10. – С.26-28.
7. Медведев И.Н., Парахневич А.В. Агрегация и цитоархитектоника эритроцитов у поросят, потребляющих растительные корма, в экологических условиях центральной России // *Сельскохозяйственная биология*. – 2013. – №4. – С.110-114.
8. Шитикова А.С. Визуальный микрометод исследования агрегации тромбоцитов. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний. – СПб.: 1999. – С.49-52.
9. Шитикова А.С., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов и его значение в клинической практике // *Клиническая и лабораторная диагностика*. – 1997. – №2. – С. 23-35.
10. Ермолаева Т.А., Головина О.Г., Морозова Т.В. Программа клинико-лабораторного обследования больных тромбоцитопатиями. – Санкт-Петербург, 1992. – 25с.
11. Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Гемостатически значимая активность сосудов у поросят при потреблении растительных кормов // *Сельскохозяйственная биология*. – 2013. – №2. – С.88-92.

Поступила в редакцию 06.08.2018
После доработки 09.01.19
Принята к публикации 28.01.19