

АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ
У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ С ДИСПЕПСИЕЙ

И.Н. МЕДВЕДЕВ, И.А. ГОРЯЙНОВА, М.М. НАУМОВ, М.Н. ПАВЛОВ*

У новорожденных телят с диспепсией выявлено повышение агрегационной функций тромбоцитов. В основе этих нарушений лежат глубокие сдвиги липидного состава мембран тромбоцитов, повышение содержания в плазме и кровяных пластинках уровня средних молекул, активация перекисного окисления липидов в них, усиление синтеза в стенке сосудов фактора Виллебранда и интенсификация тромбоксанообразования в кровяных пластинках. Активация тромбопластинообразования является ведущей причиной повышения свертывания крови у новорожденных телят с диспепсией. Коррекция нарушений тромбоцитарного звена гемостаза должна включать в себя патогенетически обусловленный комплекс, способный снижать уровень средних молекул в организме и лечить диспепсию.

Исследование нарушений агрегации тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией имеет важное практическое значение, так как именно активация первичного звена гемостаза играет ведущую роль в активизации гемостаза в целом, повышении вязкости и ухудшении реологии крови с наклоном к внутрисосудистому тромбообразованию. Вместе с тем до сих пор очень слабо изучены нарушения агрегационной способности тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией. Не определена степень нарушенияTM при дисфункции тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией липидного состава их мембран, уровня пероксидации и антиоксидантной защиты тромбоцитов, а также уровня обмена в них арахидоновой кислоты. В литературе имеются отрывочные сведения о том, что диспепсия сопровождается у новорожденных телят повышением уровня в плазме средних молекул (СМ) [6], способных нару-

шать многие функции организма. Не выяснена степень увеличения СМ в тромбоцитах, способствующих во многом формированию тромбоцитопатии.

Цель работы — исследовать особенности нарушения агрегации тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией.

Материалы и методы

В основу статьи положены материалы 3-летних исследований в хозяйствах Курской обл. Под наблюдением находились 153 новорожденных теленка с диспепсией сроком 1-3 дня от здоровых коров 1-2-го отела. Кормление и содержание осуществлялось в стандартных условиях телятника. Группу контроля составили 267 здоровых новорожденных телят. Взятие крови проводилось в утренние часы. Обследование включало определение следующих показателей. Уровень средних молекул (СМ) в плазме и отмытых и ресуспендированных тромбо-

* Курский институт социального образования (филиал) Российского государственного социального университета

** Курская государственная сельскохозяйственная академия им. И.И. Иванова.

цитах определяли по [1]. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы определяли по содержанию ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО «Агат-Мед», ацилгидроперекисей (АГП) [2], а внутритромбоцитарное ПОЛ — по концентрации базального уровня малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислотой [11], в модификации [8] и АГП [2]. Внутритромбоцитарную антиоксидантную систему характеризовала активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) по [9].

В отмытых и ресуспендированных тромбоцитах определяли содержание холестерина энзиматическим колориметрическим методом набором фирмы «Витал Диагностикум» и фосфолипидов по фосфору [7]. Исследовали также активность и время образования эндогенного тромбопластина [10]. Для косвенной оценки обмена арахидоновой кислоты в тромбоцитах, а также активности в них циклооксигеназы и тромбоксансинтетазы использованы 3 пробы переноса по методу [4] с регистрацией агрегации тромбоцитов (АТ) на ФЭКе [5]. Производили подсчет количества тромбоцитов в капиллярной крови в камере Горяева. Агрегационную способность тромбоцитов исследовали визуальным микрометодом [3] с использованием в качестве индукторов АДФ ($0,5 \times 10^{14}$ М), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина ($0,125$ ед/мл), ристомидина ($0,8$ мг/мл) (НПО «Ренам»), адреналина (5×10^{-6} М, завод Гедеон Рихтер А.О.). Для моделирования реальных условий кровотока применены сочетания индукторов АДФ+адреналин, АДФ+коллаген и адреналин+коллаген. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использо-

ванием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде $M \pm t$.

Результаты и их обсуждение

У телят с диспепсией отмечалось повышение ПОЛ плазмы. Так, концентрация ТБК-активных продуктов в плазме составила $5,10 \pm 0,02$ мкмоль/л, в контроле — $3,92 \pm 0,06$ мкмоль/л. Уровень МДА в тромбоцитах больных животных также был повышен, что свидетельствовало об активации в них свободнорадикального окисления (СРО) в связи с ослаблением внутритромбоцитарной антиоксидантной активности. Содержание АГП в плазме больных телят составляло $3,50 \pm 0,01$ Д₂₃₃ /1 мл (в контроле $1,92 \pm 0,02$ Д₂₃₃ /1 мл). В тромбоцитах больных АГП ($3,49 \pm 0,01$ Д₂₃₃ / 10^9 тр.) также существенно превышали контрольные значения.

Активация СРО в тромбоцитах у больных телят стала возможной в результате существенного ослабления антиоксидантных ферментов кровяных пластинок — СОД и каталазы. Уровень СМ в плазме при 280 нм. составлял $0,49 \pm 0,01$ усл. ед., при 254 нм. — $0,32 \pm 0,02$ против контроля $0,32 \pm 0,002$ и $0,24 \pm 0,03$ усл. ед. соответственно. В тромбоцитах телят с диспепсией уровни СМ при 280 и 254 нм были достоверно выше контроля (табл. 1).

Исследование липидного состава мембран тромбоцитов у больных телят выявило снижение содержания в них ОФЛ до $0,38 \pm 0,001$ мкмоль/ 10^9 тр. и увеличение уровня ОХС до $0,82 \pm 0,001$ мкмоль/ 10^9 тр. В контроле аналогичные показатели составили $0,49 \pm 0,002$ мкмоль/ 10^9 тр. и $0,73 \pm 0,001$ мкмоль/ 10^9 тр. соответственно. У больных животных отмечалось усиление тромбопластинообразования. Время образования активного тромбопластина у них составляло

Таблица 1

Биохимические показатели тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией

Показатель	Больные диспепсией телята, n=153, M±m	Контроль, n=267, M±m
ХС тромбоцитов, мкмоль/10 ⁹ тр.	0,82±0,001	0,73±0,001 P<0,01
ОФЛ тромбоцитов, мкмоль/10 ⁹ тр.	0,38±0,001	0,49±0,002 P<0,01
ХС/ОФЛ тромбоцитов	2,15±0,02	1,48±0,01 P<0,01
АГП тромбоцитов, Д ₂₃₃ /10 ⁹ тр.	3,49±0,01	2,87±0,04 P<0,01
Базальный МДА тромбоцитов, нмоль/10 ⁹ тр.	1,54±0,004	0,89±0,02 P<0,01
Средние молекулы ₂₈₀ тромбоцитов, усл. ед./10 ⁹ тр.	0,061±0,02	0,050±0,04 P<0,01
Средние молекулы ₂₅₄ тромбоцитов, усл. ед./10 ⁹ тр.	0,069±0,03	0,055±0,04 P<0,01
Каталаза тромбоцитов, МЕ/10 ⁹ тр.	5690,0±21,00	10500,0±11,05 P<0,01
СОД тромбоцитов, МЕ/10 ⁹ тр.	1250,0±4,36	1780,0±2,06 P<0,01

2,95±0,01 мин, активность — 9,6±±0,02 с. В группе контроля тромбопластин образовался за 2,40±0,01 мин, а активность его составляла 14,0±0,05 с.

Весь комплекс биохимических изменений в тромбоцитах характеризовал усиление обмена в них арахидоновой кислоты и повышение тромбоксанообразования. В простой пробе переноса косвенно оценен уровень тромбоксана в кровяных пластинках телят — 74,3±0,03% (в контроле — 39,2±0,02%). Эти показатели говорят об активации циклооксигеназы, выявленной по восстановлению АТ в коллаген-аспириновой пробе — 96,8±0,05% и тромбоксансинтетазы, определенной по восстановлению АТ в коллаген-имидазольной пробе — 54,6±±0,02%. У здоровых животных аналогичные показатели составили 78,4±0,19 и 30,3±0,01% соответственно.

Количество тромбоцитов в крови больных было в пределах нор-

мы. Было отмечено ускорение АТ, особенно под влиянием коллагена. Несколько медленнее АТ развивалась у телят под влиянием АДФ и ристомидина, но раньше, чем в контроле. Тромбиновая и адреналиновая АТ также возникали быстрее, чем в контроле и были равны 42,4±0,11 с и 75,6±0,16 соответственно (P<0,01). Время развития АТ под влиянием сочетанного применения индукторов также было ускоренным для всех испытанных их комбинаций — АДФ+адреналин, АДФ+коллаген, адреналин+коллаген (табл. 2).

Течение диспепсии у телят носит сложный характер и сопровождается развитием тромбоцитопатии и активацией процесса свертывания крови. Патогенез диспепсии обуславливает сдвиги в соотношении ХС/ФЛ в мембранах тромбоцитов, что в совокупности с нарушениями пищеварения и всасывания способствует увеличению в кровотоке, а затем и в тромбоци-

Таблица 2

Агрегационная активность тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией, с

Показатель	Больные диспепсией телята, n=153, M±m	Контроль, n=267, M±m
АДФ	33,0±0,12	39,0±0,28 P<0,01
Коллаген	25,3±0,21	30,0±0,12 P<0,01
Тромбин	42,4±0,11	54,0±0,2 P<0,01
Ристомидин	26,2±0,13	41,0±0,26 P<0,01
Адреналин	75,6±0,16	97,0±0,45 P<0,01
АДФ+адреналин	20,0±0,12	36,0±0,5 P<0,01
АДФ+коллаген	18,4±0,09	27,0±0,09 P<0,01
Адреналин+коллаген	20,3±0,07	30,1±0,12 P<0,01

тах содержания СМ, обуславливающих ослабление антиоксидантной защиты кровяных пластинок и повышение концентрации в них первичных и вторичных продуктов ПОЛ. В этих условиях у телят происходит активация тромбоцитов и тромбопластинообразования. Повышение тромбогенного потенциала плазмы крови при диспепсии связано в первую очередь с активацией тромбоцитарных функций, а не с повышением уровней различных факторов свертывания, в т.ч. фибриногена. Активация фибринообразования, без сомнения, имеющая место при диспепсии, происходит в первую очередь на поверхности активированных тромбоцитов и носит всегда вторичный характер по отношению к их адгезии и агрегации.

Совокупность метаболических нарушений, изменения состава мембран тромбоцитов, повышение содержания в них СМ и усиление внут-

ритромбоцитарного ПОЛ приводит к повышению агрегации тромбоцитов в кровотоке под влиянием различных индукторов. Возможными механизмами этого усиления можно считать активизацию обмена арахидоновой кислоты с повышением в ней тромбоксанообразования, зарегистрированного в пробах переноса, и увеличение концентрации участвующего в процессе агрегации фактора Виллебранда, косвенно оцененной по ускорению АТ с ристомидином.

Исследование сочетания влияния индукторов на процесс АТ у больных телят показало их взаимопотенцирующее действие. Регистрация АТ под влиянием сочетания двух индукторов позволяет приблизиться к пониманию реальных условий кровотока у животных с диспепсией и свидетельствует о целесообразности назначения соответствующей терапии, способной нормализовать реологию крови.

Выявленные нарушения тромбоцитарного гемостаза у телят с диспепсией нуждаются в адекватной коррекции, направленной на разрыв «порочных кругов», развивающихся при диспепсии.

Заключение

У новорожденных телят с диспепсией выявлено повышение агрегационной функций тромбоцитов. В основе этих нарушений лежат сдвиги липидного спектра мембран тромбоцитов, повышение уровня в них средних молекул, активация перекисного окисления липидов плазмы и тромбоцитов, усиление синтеза в стенке сосудов фактора Виллебранда и интенсификация тромбоксанообразования в кровяных пластинках. Активация тромбопластинообразования является ведущей причиной повышения свертывания крови у новорожденных телят с диспепсией. Коррекция нарушений тромбоцитарного звена гемостаза

должна включать в себя патогенетически обусловленный комплекс, способный лечить диспепсию и оптимизировать реологию крови одновременно.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Габриэлян Н.И., Липатова В.И. и др.** Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях / Методические рекомендации. М, 1985. — 2. **Гаверилов В.Б., Мишкорудная М.И.** Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабор. дело, 1983. № 3. С. 33—36. — 3. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / Под ред. Н.Н. Петрищева, А.П. Папаян. СПб., 1999. — 4. **Ермолаева Т.А., Головина О.Г., Морозова Т.В. и др.** Программа клинико-лабораторного исследования больных тромбоцитопатиями. СПб., 1992. — 5. **Захария Е.А., Кипах М.В.** Упрощенный способ определения агрегации и дезагрегации тромбоцитов // Лабор. дело, 1989. № 1. С. 36-38. — 6. **Киселева Р.Е., Борченко Р.В., Кузьмичева Л.В.** Эндогенная интоксикация у телят при диарее // Ветеринария, 2005. № 12. С. 39-41. — 7. **Колб В.Г., Камышиников В.С.** Справочник по клинической химии. Минск: Беларусь, 1982. — 8. **Кубатиев А.А., Андреев С.В.** Перекиси липидов и тромбоз // Бюлл. эксперим. биол. и медицины, 1979. № 5. С. 414-417. — 9. **Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я.** Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабор. дело, 1991. № 10. С. 9-13. — 10. **Biggs R., Douglas A.S., Macfarlane R.G.** // J. Physiol, 1953. Vol. 119. № 1. P. 89-104. — 11. **Schmith J.B., Jngerma C.M., Silver M.J.** // J. Lab. Clin. Med, 1976. Vol. 88. № 1. P. 167-172.

SUMMARY

The increase in aggregate functioning of trombocytes in new-born calves having dyspepsia (scour) has been revealed. And the basis of these faults lies in deep displacement of lipidic composition of trombocytes membranes, middle molecules level increase in plasma and in blood plates, activation of peroxide lipidic oxidation in them strengthening of Vilebrand's factor in vessels' sides and intensification of trombo-oxano formation in blood plates. Activation of trombo-plates formation is a principal reason of blood coagulation increase in new-born calves having scours. Correction of these faults should include pathogenetic complex allowing to decrease medium molecules level in organism and cure dyspepsia (scours) in calves.