

## **Физиология онтогенеза**

УДК 636.4:636.084:599.11

### **ГЕМОСТАТИЧЕСКИ ЗНАЧИМАЯ АКТИВНОСТЬ СОСУДОВ У ПОРОСЯТ ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМОВ**

**Е.Г. КРАСНОВА, И.Н. МЕДВЕДЕВ**

При обследовании 34 здоровых поросят породы крупная белая в период с 41-х по 240-е сут жизни в сыворотке крови установлено снижение концентрации продуктов перекисного окисления липидов на фоне повышения активности антиоксидантного потенциала плазмы. Показано, что при низкой эндотелиоцитемии со всеми испытанными индукторами и их сочетаниями возрастили значения индексов антиагрегационной активности сосудистой стенки. Для эндотелиоцитов было характерно увеличение продукции антитромбина III, обеспечивающее необходимое содержание в крови антикоагулянтов сосудистого происхождения. При этом секреция тканевых активаторов плазминогена, выявляемая в условиях временной ишемии венозной стенки, усиливалась.

**Ключевые слова:** поросята, фаза растительного питания, ранний онтогенез, гемостаз, сосудистая стенка, перекисное окисление липидов.

**Keywords:** piglets, power plant phase, early ontogeny, hemostasis, vascular wall, lipid peroxidation.

Существенным элементом поддержания гомеостаза в онтогенезе служит гемостатически значимая активность сосудистой стенки, во многом определяющая степень развития большинства функций организма (1). Важнейшую роль в сосудистом гемостазе играет эндотелий сосудистой стенки — аутокринный, паракринный и эндокринный орган с многочисленными регуляторными свойствами. От него зависит синтез веществ, ограничивающих агрегацию тромбоцитов, антикоагулянтов и компонентов системы фибринолиза (2). У поросят антиагрегационные, противосвертывающие и фибринолитические механизмы эндотелия сосудистой стенки влияют не только на гемостаз в целом, но также на микроциркуляцию и тканевой метаболизм. Со статусом сосудистого эндотелия у продуктивных животных тесно взаимосвязана динамика состояния органов и тканей в процессе роста и развития (3).

Фаза растительного питания — важный этап раннего онтогенеза у поросят. Гемостатической активностью сосудистой стенки в этот период в значительной степени определяется скорость роста до товарной массы и полноценное созревание свинок, что позволяет получать от них здоровое потомство (4). Однако сосудистый гемостаз у поросят в фазу растительного питания изучен неполно, в частности недостаточно данных о способности сосудов синтезировать антиагреганты, антитромбин III (АТ III) и тканевой активатор плазминогена.

В этой связи целью нашего исследования было выявление гемостатически значимой активности сосудистой стенки у здоровых поросят в раннем онтогенезе при содержании на растительном рационе.

**Методика.** Объектом исследования были 34 клинически здоровых поросенка породы крупная белая, взятые под наблюдение в возрасте 41 сут и содержащиеся в условиях откормочного комплекса (Калужский филиал ПСХ «Щелканово» ФГБУ ОК «Бор»). Рацион животных с 41-х по 105-е сут состоял из комбикорма КК-50, со 106-х по 240-е сут — из комбикорма КК-58 (ОАО «Богдановичский комбикормовый завод», Россия) с постепенным повышением количества с 550 до 3350 г/сут.

Животных обследовали 6 раз — на 41-е, 80-е, 120-е, 160-е, 200-е и 240-е сут жизни. Кровь отбирали из хвостовой вены утром до кормления, оценивая все показатели в плазме, получаемой после центрифугирования. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы крови регистрировали при помощи спектрофотометра Unico модель 2802 (США) по концентрации ацилгидроперекисей (АГП) (5), ТБК-активных продуктов (ТБК — тиобарбитуровая кислота) — с использованием тест-набора фирмы ООО «Агат-Мед» (Россия), антиокислительную активность (АОА) жидкой части крови определяли согласно приведенной методике (6). Эндотелиоцитами оценивали по методу М.С. Зайнулиной (7), антиагрегационную способность стенки сосуда — как описано (8), применяя визуальный микрометод для регистрации агрегации тромбоцитов (АТ) (9) в присутствии АДФ ( $0,5 \times 10^{-4}$  М), коллагена (разведение основного раствора — 1:2), тромбина (0,125 ед/мл), ристомицина (0,8 мг/мл),  $H_2O_2$  ( $7,3 \times 10^{-3}$  М) или адреналина ( $5,0 \times 10^{-6}$  М), а также в вариантах с их сочетанием (АДФ + адреналин, АДФ + коллаген и коллаген + адреналин в тех же концентрациях) при стандартизированном числе тромбоцитов в исследуемой плазме ( $200 \times 10^9$  кл.) до и после временной венозной окклюзии. На основе полученных данных вычисляли индекс антиагрегационной активности сосудистой стенки (ИААСС) как частное от деления продолжительности периода АТ при венозном застое на время развития АТ без него. Для расчета индекса антикоагуляционной активности стенки сосуда (ИАКАСС) показатель активности АТ III (10) после венозной окклюзии делили на его значение до нее (8). Влияние сосудистой стенки на фибринолитическую способность крови исследовали при помощи метода определения скорости лизиса фибринового сгустка (10) до и после временной венозной окклюзии, основывающегося на выбросе из стенки сосуда в кровь на фоне преходящей ишемии сосуда тканевого активатора плазминогена (8). Индекс фибринолитической активности сосудистой стенки (ИФАСС) вычисляли делением времени лизиса до окклюзии на время лизиса после нее.

Результаты исследований обрабатывали статистически с помощью *t*-критерия Стьюдента общепринятым методом.

**Результаты.** У поросят в плазме крови отмечалось достоверное снижение концентрации как первичных (АГП), так и вторичных (ТБК-активные соединения) продуктов ПОЛ — соответственно с  $1,3 \pm 0,05$  до  $1,1 \pm 0,09$   $D_{233}$ /мл и с  $3,0 \pm 0,12$  до  $2,6 \pm 0,07$  мкмоль/л. Отмеченное уменьшение интенсивности пероксидации оказалось возможным в результате нарастания антиоксидантного потенциала плазмы с  $38,8 \pm 0,07$  до  $42,9 \pm 0,06$  %.

У здоровых поросят, перешедших на растительное питание, отмечали высокую целостность эндотелиальной выстилки сосуда, вероятно, за счет выраженной связи клеток между собой и субэндотелиальными структурами, что подтверждали низкие показатели эндотелиоцитии с 41-х ( $1,2 \pm 0,05$  кл/мкл) до 240-х сут жизни ( $1,3 \pm 0,09$  кл/мкл).

У наблюдаемых животных в раннем онтогенезе при переводе на растительное питание происходило увеличение ИААСС со всеми примененными индукторами и их сочетаниями (табл.).

Самый высокий ИААСС отмечали в варианте с адреналином ввиду наибольшего торможения АТ с индуктором при венозной окклюзии. Несколько ниже были значения ИААСС в присутствии АДФ и  $H_2O_2$ . Им уступали показатели ИААСС при добавлении коллагена и ристомицина, также повышающиеся у поросят с 41-х по 240-е сут жизни. Индексы агрегационной активности сосудистой стенки при сочетании индукторов в аб-

солютных значениях оказались меньше, причем проявилась тенденция к нарастанию показателей в течение всего времени наблюдения.

**Показатели гемостатической активности сосудов у поросят породы крупная белая, содержащихся на растительном рационе, в зависимости от возраста ( $n = 34$ ,  $M \pm m$ , Калужский филиал ПСХ «Щелканово» ФГБУ ОК «Бор»)**

Показатель	41-е сут	80-е сут	120-е сут	160-е сут	200-е сут	240-е сут	Среднее
ИААСС по вариантам опыта:							
АДФ	1,9±0,07	2,1±0,05 p < 0,05	2,1±0,03 p < 0,05	2,2±0,06 p < 0,05	2,3±0,07 p < 0,05	2,5±0,09 p < 0,01	2,2±0,06
коллаген	1,9±0,07	2,0±0,06 p < 0,05	2,1±0,04 p < 0,05	2,2±0,04 p < 0,05	2,4±0,08 p < 0,05	2,6±0,05 p < 0,01	2,2±0,06
тромбин	1,6±0,07	1,7±0,06 p < 0,05	1,7±0,04 p < 0,05	1,8±0,06 p < 0,05	1,9±0,07 p < 0,05	2,0±0,08 p < 0,05	1,8±0,06
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,9±0,02	2,0±0,03 p < 0,05	2,0±0,05 p < 0,05	2,1±0,04 p < 0,05	2,2±0,06 p < 0,05	2,3±0,08 p < 0,05	2,1±0,05
ристомицин	1,8±0,06	1,9±0,02 p < 0,05	2,0±0,04 p < 0,05	2,1±0,03 p < 0,05	2,2±0,05 p < 0,05	2,3±0,07 p < 0,05	2,0±0,05
адреналин	1,9±0,08	1,9±0,05 p < 0,05	2,0±0,07 p < 0,05	2,1±0,06 p < 0,05	2,1±0,04 p < 0,05	2,2±0,03 p < 0,05	2,0±0,06
АДФ + адреналин	1,9±0,06	1,9±0,05 p < 0,05	2,0±0,02 p < 0,01	2,2±0,04 p < 0,01	2,3±0,07 p < 0,05	2,4±0,05 p < 0,05	2,1±0,05
АДФ + коллаген	1,9±0,06	2,0±0,12 p < 0,05	2,2±0,14 p < 0,01	2,4±0,07 p < 0,01	2,6±0,08 p < 0,01	2,7±0,05 p < 0,05	2,3±0,09
адреналин + коллаген	1,9±0,06	2,0±0,05 p < 0,05	2,2±0,07 p < 0,01	2,4±0,03 p < 0,01	2,5±0,06 p < 0,01	2,6±0,04 p < 0,05	2,3±0,05
Активность АТ III в плазме крови:							
до компрессионной пробы, %	99,4±0,07	99,9±0,05 p < 0,05	102,7±0,12 p < 0,05	105,3±0,06 p < 0,05	109,6±0,07 p < 0,05	111,4±0,05 p < 0,05	104,7±0,07
после компрессионной пробы, %	133,9±0,12	135,4±0,11 p < 0,05	139,8±0,06 p < 0,05	143,4±0,08 p < 0,05	151,5±0,16 p < 0,05	156,3±0,12 p < 0,05	143,4±0,12
ИАКАСС	1,3±0,04	1,3±0,07 p < 0,05	1,3±0,02 p < 0,05	1,3±0,08 p < 0,05	1,4±0,06 p < 0,05	1,4±0,03 p < 0,05	1,3±0,05
Время лизиса фибринового сгустка, мин:							
до компрессии	7,8±0,03	7,7±0,06 p < 0,05	7,6±0,03 p < 0,05	7,5±0,08 p < 0,05	7,3±0,05 p < 0,05	7,2±0,01 p < 0,05	7,5±0,05
после компрессии	4,9±0,02	4,8±0,05 p < 0,05	4,7±0,03 p < 0,05	4,6±0,04 p < 0,05	4,4±0,09 p < 0,05	4,2±0,08 p < 0,05	4,6±0,07
ИФАСС	1,6±0,02	1,6±0,06 p < 0,05	1,6±0,07 p < 0,05	1,6±0,04 p < 0,05	1,7±0,02 p < 0,05	1,7±0,05 p < 0,05	1,6±0,04

При мечани е. ИААСС — индекс антиагрегационной активности сосудистой стенки, АТ III — анти thrombin III, ИАКАСС — индекса антикоагуляционной активности стенки сосуда, ИФАСС — индекс фибринолитической активности сосудистой стенки; р — уровень достоверности (приведены значения для достоверных различий).

К 240-м сут в крови поросят отмечался рост активности АТ III до значения 111,4±0,05 % (см. табл.). При этом характерным оказалось повышение продукции АТ III эндотелиоцитами, что во многом обеспечивает оптимальную адаптацию организма к условиям внешней среды за счет поддержания в плазме крови необходимой концентрации антикоагулянтов сосудистого происхождения (величина ИАКАСС к концу наблюдения составляла 1,4±0,03).

Мы установили сокращение времени спонтанного лизиса фибринового сгустка до 7,2±0,01 мин, что сочеталось с усилением секреции соудами тканевого активатора плазминогена, выброс которого провоцировался временной ишемией венозной стенки (за время наблюдения ИФАСС возрастал до 1,7±0,05).

Известно, что фаза растительного питания — завершающий этап раннего онтогенеза животного, во многом закрепляющий адаптацию организма к условиям внешней среды и питанию растительными кормами. В этот период происходит весьма активный рост и созревание всех органов и систем в соответствии с генетической программой животного на основе взаимодействия «генотип—среда» (3). Сосудистая система оказывает интегрирующее влияние на организм. Она полифункциональна и через ряд

механизмов связана со всеми системами, органами, также влияющими на агрегатное состояние крови. Функциональная активность стенки сосуда у молодняка обуславливает содержание факторов, поддерживающих оптимальную реологию крови и, тем самым, гомеостаз (11).

В наших опытах невысокая интенсивность ПОЛ плазмы у поросят, получающих растительные корма, определяла слабую альтерацию эндотелиоцитов, что способствовало усилению антиагрегационной функции стенки сосудов (видимо, за счет высокой интенсивности синтеза в ней простациклина и NO) и активной микроциркуляции в тканях, необходимой в условиях роста и созревания организма (11).

В пробах с временной ишемией венозной стенки у здоровых поросят удалось выявить усиление контроля сосудов над адгезивной способностью кровяных пластинок, обеспечиваемый двумя механизмами. Первый заключался в достаточном контроле со стороны сосудистой стенки над плотностью коллагеновых рецепторов-гликопротеидов (Ia-IIa и VI) на мембране тромбоцитов, что косвенно было установлено по постоянству торможения АТ с коллагеном при временной венозной ишемии. Второй механизм связан с усилением контроля со стороны физиологических дезагрегантов над возрастным повышением выработки фактора Виллебранда структурами сосудов (3, 11). В результате нарастания образования в сосудах физиологических антиагрегантов поддерживается постоянная невысокая степень фиксации сильных агонистов агрегации (коллагена и тромбина) рецепторами на мембране тромбоцитов, что сдерживает активность фосфолипазы С и тормозит фосфоинозитольную активацию тромбоцитов, ослабляя фосфорилирование белков сократительной системы. В условиях постепенного усиления синтеза в сосудах простациклина и NO действие слабых индукторов агрегации (АДФ и адреналин) на рецепторы тромбоцитов также стабильно и не выражено, что связано с достаточностью контроля со стороны антиагрегантов сосудистой стенки за экспрессией фибриногеновых рецепторов (гликопротеиды GPIIb-IIIa) при небольшой активности фосфолипазы A<sub>2</sub>, регулирующей образование арахидоновой кислоты при гидролизе фосфолипидов (4, 11). Найденное в наших опытах увеличение антиагрегационной активности сосудистой стенки при совместном применении индукторов агрегации, в значительной мере моделирующем реальные условия кровотока, когда в кровяном русле одновременно присутствуют несколько агонистов, показало достаточность выработки дезагgregирующих субстанций клетками сосудистой стенки.

Важную роль в формировании адекватной агрегации активности сосудистой стенки играет усиление ее антикоагулянтных и фибринолитических свойств. Первые обусловлены усилением выработки в интактном субэндотелии одного из мощнейших физиологических антикоагулянтов — АТ III. У 41-240-суточных поросят выраженный контроль сосудистой стенки над фибринолитической активностью крови обеспечивается за счет повышения интенсивности синтеза в ней активаторов плазминогена. В основе этих процессов во многом лежит постепенное снижение активности ПОЛ плазмы, контролирующего функцию эндотелиоцитов, в том числе синтез и последующую секрецию активаторов плазминогена.

Таким образом, для поросят после перевода на растительный рацион свойственно усиление антиагрегационной, антикоагуляционной и фибринолитической функции клеток стенки сосудов, за счет чего обеспечивается необходимый контроль над общим состоянием гемостаза в процессе интенсивного роста и созревания животного.

## ЛИТЕРАТУРА

- Максимов А.Г. Изменение гематологических, иммунологических и биохимических показателей крови у свиней при транспортном стрессе. Сельскохозяйственная биология, 2010, 6: 60-66.
- Беляев В.И., Вострилова Г.А., Кабицкий С.Н., Баранова Т.Ю. Биохимические показатели крови и репродуктивная функция у свиноматок на фоне иммуномодуляторов. Сельскохозяйственная биология, 2012, 4: 83-87.
- Завалишина С.Ю., Медведев И.Н. Антиагрегационные возможности стенок сосудов у телят молочно-растительного питания. Проблемы биологии продуктивных животных, 2012, 1: 156-159.
- Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Тромбоцитарная активность гемостаза у поросят молочного питания. Ветеринария, 2011, 3(54): 34-37.
- Гаврилов В.Б., Михорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. Лабораторное дело, 1983, 3: 33-36.
- Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000.
- Занинулина М.С. Определение эндотелиоцитов в крови. В кн.: Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний /Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. СПб, 1999: 72-73.
- Балуда В.П., Соколов Е.И., Балуда М.В. Манжеточная проба в диагностике функционального состояния сосудистого звена системы гемостаза. Гематология и трансфузиология, 1987, 9: 51-53.
- Шитикова А.С. Визуальный микрометод исследования агрегации тромбоцитов. В сб.: Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний /Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. СПб, 1999: 49-52.
- Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. М., 1999.
- Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Белова Т.А. Механизмы функционирования гемостаза у биологических объектов. Международный вестник ветеринарии, 2010, 1: 52-55.

Курский институт социального образования (филиал)  
ФГБОУ ВПО Российского государственного  
социального университета,  
305029 г. Курск, ул. К. Маркса, 51,  
e-mail: ilmedv1@yandex.ru

Поступила в редакцию  
27 августа 2012 года

## SIGNIFICANT HEMOSTATIC VASCULAR ACTIVITY IN PIGLETS AT THE ONTHOGENIC PHASE OF PLANT NUTRITION

E.G. Krasnova, I.N. Medvedev

### S u m m a r y

The survey of 34 healthy piglets of the Large White breed at 41-240 days of life revealed the lowering in concentration of lipid peroxidation products in their blood serum against the background of the increasing the antioxidant potential activity in their plasma. It was shown, that low levels of endothelializemia with all tested inducers and their combinations result in raising the indices of antiaggregatory activity of the vascular wall. The piglets endotheliocytes were characterized by increased production, which provides the necessary antitrombin III level in their blood anticoagulants vascular origin. The secretion of tissue plasminogen activators identified when creating temporary cerebral venous wall in piglets of this age has grown.

### Научные собрания

КОНФЕРЕНЦИЯ ВОГИС «ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ»  
(г. Новосибирск, 1-7 июля 2013 года)

МЕЖДУНАРОДНАЯ ШКОЛА-СЕМИНАР  
«СОВРЕМЕННЫЕ ВОПРОСЫ БИОИНФОРМАТИКИ»  
(г. Новосибирск, 4-8 июля 2013 года)

РАБОЧИЙ СЕМИНАР «ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ  
ОРГАНИЗМОВ – РЕСУРСЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ».  
(г. Новосибирск, 29 июля-4 августа 2013 года)

Контакты и информация: <http://www.bionet.nsc.ru>