УДК [616-005.1-08:331.1]:615.22

АГРЕГАЦИОННЫЕ И ЦИТОАРХИТЕКТОНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ У ПОРОСЯТ В ТЕЧЕНИЕ ФАЗЫ МОЛОЧНО-РАСТИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Медведев И.Н., Парахневич А.В.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ, Курск, e-mail: zsyu@046.ru

Течение всего онтогенеза у продуктивных животных характеризуется изменениями микрореологических особенностей их форменных элементов, что неизбежно влияет на общие реологические свойства крови. Данная работа посвящена исследованию реологических свойств эритроцитов у здоровых поросят молочно-растительного питания. В исследование включено 39 здоровых поросят молочно-растительного питания породы крупная белая, обследованных на 21-е, 25-е, 30-е и 40-е сутки жизни. У наблюдаемых животных оценивались активность перекисного окисления липидов, показатели цитоархитектоники и агрегации эритроцитов с последующим расчетом индексов, характеризующих сущность данных показателей. Был проведен статистический анализ полученных результатов. У здоровых поросят молочно-растительного питания отмечается оптимальный липидный состав эритроцитов и невысокая активность в них перекисного окисления липидов при некотором повышении агрегации эритроцитов и увеличении в их крови содержания обратимо и необратимо измененных эритроцитов на фоне понижения количества дискоцитов. У поросят к концу наблюдения зарегистрировано понижение количества эритроцитов-дискоцитов до 83,3 ± 0,09 %, повышение уровня обратимо измененных до 10,8 ± 0,07 % и необратимо измененных эритроцитов до 5,9 ± 0,05 %. В крови поросят молочно-растительного питания отмечено небольшое увеличение уровня суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты и количества самих агрегатов при понижении числа свободно перемещающихся красных кровяных телец.

Ключевые слова: эритроциты, агрегация, цитоархитектоника, поросята, молочно-растительное питание

AGGREGATIVE AND CYTOARCHITECTURE PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN PIGLETS DURING THE PHASE OF DAIRY-VEGETABLE NUTRITION

Medvedev I.N., Parahnevich A.V.

Kursk Institute of social education (branch of the institute RSSU (Russian State Social University)), Kursk, e-mail: zsyu@046.ru

Throughout ontogeny from productive animals characterized by changes in the characteristics of their uniform microrheological that inevitably affects the general flow properties of blood. This work is dedicated to the study of the rheological properties of erythrocytes in healthy pigs dairy-vegetable diet. The study included 39 healthy piglets dairy-vegetable nutrition breed large white surveyed at 21, 25, 30 and 40 day life. Observed animals assessed the activity of lipid peroxidation, cellular composition and aggregation of erythrocytes with subsequent calculation of indexes describing the entity data indicators. Was conducted a statistical analysis of the results obtained. In healthy pigs dairy-vegetable nutrition is optimal lipid composition of erythrocyte and low activity of lipid peroxidation in them, with some raising the aggregation of erythrocytes and increase in their blood of reversible and irreversible changes of erythrocytes on the background of decreasing the number of diskocyte. Gilts were lower by the end of the observation of red-diskocyte up to 83,3 ± 0,09 % improved reversible modified to 10,8 ± 0,07 % and irreversibly altered erythrocytes and 5,9 ± 0,05 %. In the blood of pigs dairy-vegetable food noted a slight increase in the level of total involvement of erythrocytes in units and the number of units in the lower number of freely moving red blood cells.

Keywords: erythrocytes, aggregation, cytoarchitecture, pigs, dairy and vegetable food

Непрерывное перемещение крови по сосудам в значительной мере определяет состояние функциональной активности организма всех продуктивных животных, в т.ч. поросят, контролируя процессы тканевого обмена в любых условиях экологической обстановки. Важными элементами реологии крови у них на всех этапах их развития являются ее форменные элементы [7], в т.ч. эритроциты, во многом определяющие ее жидкостные свойства за счет определенной их агрегационной активности и геометрии [6]. Не вызывает сомнения, что в любом возрасте у поросенка очень важно состояние микрореологических свойств эритроцитов, т.к. достаточный приток кислорода к тканям обеспечивает наилучшее протекание всех биохимических процессов [3, 6]. При этом, несмотря на важность состояния цитоархитектоники и агрегации эритроцитов у здоровых поросят, их особенности в отдельные фазы онтогенеза остаются исследованными весьма недостаточно.

В этой связи в настоящей работе была поставлена цель: выяснить реологические свойства эритроцитов у здоровых поросят молочно-растительного питания.

Материалы и методы исследования

В работе обследовано 39 здоровых поросят породы крупная белая на 21-е, 25-е, 30-е, 35-е и 40-е сутки жизни. У поросят оценивалась активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы по количеству в ней ацилгидроперекисей (АГП) [2], тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед». Регистрировалась антиокислительная активность (АОА) жидкой части крови [1].

Эритроциты отмывались и ресуспендировались с последующей оценкой уровня в них ПОЛ, регистрирующегося по количеству в них АГП [2] и малонового диальдегида (МДА) [5]. С использованием набора «Витал Диагностикум» в эритроцитах поросят количественно определен уровень холестерина (ХС). По количеству в их мембранах фосфора было выявлено содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) [4] с вычислением на основе полученных данных соотношения ОХС/ОФЛ. Уровень возможностей внутриэритроцитарных ферментов антиокисления выявлялся для каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [8].

Цитоархитектоника эритроцитов поросят определялась путем световой фазовоконтрастной микроскопии в результате их типирования на дискоциты, дискоциты с одним выростом, дискоциты с гребнем, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде тутовой ягоды, куполообразные эритроциты (стоматоциты), сфероциты с гладкой поверхностью, сфероциты с шипиками на поверхности, эритроциты в виде «спущенного мяча», дегенеративные формы эритроцитов. Первые пять классов эритроцитов (с признаками эхиноцитарной трансформации) считались обратимо деформированными, остальные классы относили к необратимо деформированным формам [3].

На основе полученных количеств обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов рассчитывали следующие индексы [6]:

индекс трансформации

$$(ИТ) = (ОД + НД)/Д,$$

где Д – процент дискоцитов; ОД – процент обратимо деформированных эритроцитов; НД – процент необратимо деформированных эритроцитов.

индекс обратимой трансформации
(ИОТ) = ОД/Д;

индекс необратимой трансформации
(ИНОТ) = НД/Д;

индекс обратимости (ИО) = ОД/НД.

Выраженность агрегации эритроцитов выясняли в ходе световой микроскопии при подсчете в камере Горяева агрегированных и неагрегированных эритроцитов, а также количества эритроцитарных агрегатов во взвеси отмытых красных кровяных телец с последующим расчетом среднего размера агрегата

$$СРА = СЭА/КА,$$

где СЭА – сумма всех эритроцитов в агрегате; КА – количество агрегатов.

Также высчитывался показатель агрегации

$$ПА = (СРА \cdot КА + КСЭ)/(КА + КСЭ),$$

где КСЭ – количество свободных эритроцитов и процент неагрегированных эритроцитов

$$ПНА = (КСЭ \cdot 100)/(СРА \cdot КА + КСЭ)$$ [6].

Для статистической обработки полученных результатов применен t-критерий Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В течение фазы молочно-растительного питания у здоровых поросят отмечено постепенное усиление АОА плазмы (с 38,0 ± 0,09 % в начале до 42,4 ± 0,09 % в ее конце), определяющее понижение активности в ней ПОЛ. Так, количественное содержание в жидкой части крови первичных продуктов АГП составляло в начале фазы 1,30 ± 0,12 $Д_{233}$/1мл, в ее конце – 1,18 ± 0,08 $Д_{233}$/1мл, вторичных продуктов пероксидации липидов – ТБК-активных соединений 2,96 ± 0,10 и 2,64 ± 0,05 мкмоль/л, соответственно.

В течение фазы молочно-растительного питания в мембранах эритроцитов у поросят найдено постепенное повышение количества холестерина с 0,91 ± 0,003 до 0,98 ± 0,006 мкмоль/10^{12} эр. при понижении ОФЛ с 0,70 ± 0,002 до 0,64 ± 0,003 мкмоль/10^{12}эр.

Уровень АГП в эритроцитах здоровых 21-суточных животных составлял 2,83 ± 0,09 $Д_{233}$/10^{12}эр., постепенно уменьшаясь к 40-суточному возрасту (2,50 ± 0,07 $Д_{233}$/10^{12}эр.). При этом уровень МДА в эритроцитах также понижался с 0,98 ± 0,04 до 0,82 ± 0,05 нмоль/10^{12} эр. Отмеченная динамика ПОЛ в эритроцитах здоровых поросят молочно-растительного питания была вызвана усилением их антиоксидантной системы, оцененной по уровню активности каталазы, составившей в начале фазы 11170,0 ± 11,6 и 13980,0 ± 10,3 МЕ/10^{12}эр. в ее конце, и СОД, функциональные возможности которой достигали 1781,3 ± 8,36 МЕ/10^{12}эр. на 21-е сутки жизни и 1923,4 ± 5,22 МЕ/10^{12}эр. на 40-е сутки, соответственно.

У наблюдаемых животных отмечено постепенное снижение в крови количества дискоцитов до 83,3 ± 0,09 %, обеспечив к концу фазы повышение уровня ИТ до 0,20 ± 0,004 (таблица). При этом у животных с 21-х до 40-х суток жизни отмечено повышение содержания в крови обратимо измененных эритроцитов до 10,8 ± 0,07 % и их необратимо трансформированных форм до 5,9 ± 0,05 %. Найденная динамика цитоархитектоники эритроцитов обеспечила у поросят увеличение в течение фазы молочно-растительного питания ИОТ до 0,13 ± 0,005 при достижении ИНОТ 0,07 ± 0,007 и ИО – 1,83 ± 0,009.

При этом у взятых под наблюдение поросят выявлено значимое нарастание агрегационной способности эритроцитов (табл.) с увеличением уровня суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты (на 20,5 %), повышение количества этих агрегатов в кровотоке (на 22,7 %) при понижении на 8,6 % содержания в крови свободно перемещающихся эритроцитов при постоянстве СРА, легком нарастании ПА (до 1,12 ± 0,07) и невыраженном уменьшении ПНА (до 86,3 ± 0,24).

Таким образом, для поросят молочно-растительного питания характерно повышение выраженности изменений цитоархитектоники и усиление агрегации эритроцитов, что, видимо, является необходимым элементом их адаптации к условиям внешней среды в течение третьей фазы их индивидуального развития.

Состояние микрореологических особенностей эритроцитов у здоровых поросят молочно-растительного питания

Параметры	Фаза молочно-растительного питания, $n = 39$, M ± m					
	21 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни	35 сут. жизни	40 сут. жизни	Средние значения
Дискоциты, %	86,2 ± 0,06	85,8 ± 0,05	85,0 ± 0,13 $p < 0,05$	84,0 ± 0,18 $p < 0,05$	83,3 ± 0,09 $p < 0,05$	84,9 ± 0,10
Обратимо изм. эритроциты, %	8,8 ± 0,05	9,0 ± 0,02	9,6 ± 0,04 $p < 0,05$	10,3 ± 0,09 $p < 0,05$	10,8 ± 0,07 $p < 0,05$	9,7 ± 0,05
Необратимо изм. эритроциты, %	5,0 ± 0,03	5,2 ± 0,05	5,4 ± 0,02 $p < 0,05$	5,7 ± 0,07 $p < 0,05$	5,9 ± 0,05 $p < 0,05$	5,4 ± 0,04
Индекс трансформации	0,16 ± 0,006	0,17 ± 0,009	0,18 ± 0,005	0,19 ± 0,003	0,20 ± 0,004	0,16 ± 0,005
Индекс обратимой трансформации	0,10 ± 0,003	0,10 ± 0,004	0,11 ± 0,005	0,12 ± 0,006	0,13 ± 0,005	0,11 ± 0,005
Индекс необратимой трансформации	0,06 ± 0,002	0,06 ± 0,004	0,06 ± 0,007	0,07 ± 0,003	0,07 ± 0,007	0,06 ± 0,005
Индекс обратимости	1,76 ± 0,007	1,73 ± 0,006	1,77 ± 0,004	1,81 ± 0,012	1,83 ± 0,009	1,78 ± 0,008
Сумма всех эритроцитов в агрегате	33,1 ± 0,16	34,8 ± 0,15 $p < 0,05$	36,5 ± 0,03 $p < 0,05$	38,7 ± 0,08 $p < 0,05$	39,9 ± 0,05 $p < 0,05$	36,6 ± 0,09
Количество агрегатов	7,5 ± 0,06	7,8 ± 0,08 $p < 0,05$	8,4 ± 0,03 $p < 0,01$	8,7 ± 0,06 $p < 0,05$	9,2 ± 0,03 $p < 0,05$	8,3 ± 0,05
Количество свободных эритроцитов	270,2 ± 0,15	265,4 ± 0,11 $p < 0,05$	261,5 ± 0,08 $p < 0,05$	254,3 ± 0,18 $p < 0,05$	248,7 ± 0,15 $p < 0,05$	260,0 ± 0,19
Показатель агрегации	1,09 ± 0,02	1,10 ± 0,06	1,10 ± 0,05	1,11 ± 0,03	1,12 ± 0,07	1,10 ± 0,05
Процент не агрегированных эритроцитов	89,1 ± 0,15	88,3 ± 0,12 $p < 0,05$	87,9 ± 0,16 $p < 0,05$	86,9 ± 0,19 $p < 0,05$	86,3 ± 0,24	87,7 ± 0,17
Средний размер агрегата, клеток	4,4 ± 0,03	4,5 ± 0,02	4,3 ± 0,04	4,4 ± 0,03	4,3 ± 0,04	4,4 ± 0,03

Условные обозначения: p – достоверность возрастной динамики учитываемых показателей.

Течение всего онтогенеза у продуктивных животных характеризуется изменениями микрореологических особенностей их форменных элементов, что неизбежно влияет на общие реологические свойства крови [7]. Нарастающая у поросят молочно-растительного питания активность ферментов антиокисления эритроцитов способствует стабилизации на невысоком уровне процессов ПОЛ, что в сочетании с небольшим повышением содержания в их мембранах ХС обеспечивает оптимальные для любых экологических условий микрореологические характеристики эритроцитов. Несомненно, это является физиологической основой поддержания в кровотоке у поросят оптимального уровня обратимо и необратимо измененных разновидностей эритроцитов при стойком превалировании их неизмененных форм, обеспечивая наилучшие реологические свойства крови, достаточную перфузию внутренних органов и, в этой связи, оптимальность процесса роста животного.

Выявленное в исследовании постепенное усиление агрегации эритроцитов у поросят в течение фазы молочно-растительного питания во многом связано с возрастным изменением заряда эритроцитов, вследствие динамики числа отрицательно заряженных протеинов [6] на фоне выяв-

ленного в них увеличения количества ХС. Это неизбежно повышает силу сцепления данных белков эритроцитарной мембраны с глобулярными протеинами плазмы, выполняющими роль «мостиков» между отдельными красными кровяными тельцами в агрегатах.

Найденные микрореологические свойства эритроцитов у поросят молочно-растительного питания во многом обеспечивают необходимые для данного этапа онтогенеза жидкостные свойства крови и, тем самым, достаточную перфузию внутренних органов. Это помогает поддерживать у них необходимый для организма обмен в клетках, способствуя дальнейшему росту и развитию животного. Очевидно, что выявленные особенности цитоархитектоники и агрегации эритроцитов поросят молочно-растительного питания в значительной мере обеспечивают переход организма на питание только растительными кормами.

Заключение

У здоровых поросят молочно-растительного питания отмечается оптимальный липидный состав эритроцитов и невысокая активность в них перекисного окисления липидов при некотором повышении агрегации эритроцитов и увеличении в их крови содержания обратимо и необратимо измененных эритроцитов на фоне понижения количества дискоцитов.

Список литературы

1. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман. – Челябинск: Изд-во Челябинского государственного педагогического университета, 2000. – 167 с.

2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – №3. – С. 33–36.

3. Козинец Г.И., Симоварт Ю.А. Поверхностная цитоархитектоника клеток периферической крови в норме и при заболеваниях системы клеток. – Таллин, 1984. – 116 с.

4. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Изд-во «Беларусь», 1982. – 367 с.

5. Кубатиев А.А., Андреев А.А. Перекиси липидов и тромбоз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 5. – С. 414–417.

6. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях / И.Н. Медведев, А.П. Савченко, С.Ю. Завалишина и др. // Российский кардиологический журнал. – 2009. – №5. – С. 42–45.

7. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю. Активность тромбоцитарного гемостаза у здоровых новорожденных телят // Доклады РАСХН. – 2011. – №5. С. 32–34.

8. Чевари С., Андял Т., Штренгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. – 1991. – №10. – С. 9–13.

References

1. Volchegorskij I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Cejlikman V.J. Jeksperimental'noe modelirovanie i laboratornaja ocenka adaptivnyh reakcij organizma [Experimental simulation and laboratory evaluation of Adaptive reactions of the organism]. Chelyabinsk, Chelyabinsk State Pedagogical University, 2000. 167 p.

2. Gavrilov V.B., Mishkorudnaja M.I. Spektrofotometricheskoe opredelenie soderzhanija gidroperekisej lipidov v plazme krovi [Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in plasma]. Laboratory business. 1983. no. 3. pp. 33–36.

3. Kozinec G.I., Simovart Ju.A. Poverhnostnaja citoarhitektonika kletok perifericheskoj krovi v norme i pri zabolevanijah sistemy kletok [Surface cytoarchitecture of peripheral blood cells in health and disease of cells]. Tallinn, 1984. 116 p.

4. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. Spravochnik po klinicheskoj himii [Handbook of clinical chemistry. Minsk: Belarus, 1982. 367 p.

5. Kubatiev A.A., Andreev A.A. Perekisi lipidov i tromboz [Lipid peroxide and thrombosis]. Bulletin of experimental biology and medicine. 1979. no 5. pp. 414–417.

6. Medvedev I.N., Savchenko A.P., Zavalishina S.Ju. i drugie. Metodicheskie podhody k issledovaniju reologicheskih svojstv krovi pri razlichnyh sostojanijah [Methodical approaches to the study of the rheological properties of blood in different states]. Russian Journal of cardiology. 2009. no 5. pp. 42–45.

7. Medvedev I.N., Zavalishina S.Ju. Aktivnost' trombocitarnogo gemostaza u zdorovyh novorozhdennyh teljat [Activity trombozitarnogo hemostasis in healthy newborn calves]. RUSSIAN Reports. 2011.no 5. pp. 32–34.

8. Chevari S., Andjal T., Shtrenger Ja. Opredelenie antioksidantnyh parametrov krovi i ih diagnosticheskoe znachenie v pozhilom vozraste [Determination of antioxidant parameters of blood and its diagnostic value in old age]. Laboratory business. 1991. no 10. pp. 9–13.

Рецензенты:

Грушкин А.Г., д.б.н., профессор кафедры ветеринарии и физиологии животных Калужского филиала РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Калуга;

Фурман Ю.В., д.б.н., профессор, декан факультета социальной работы, педагогики и психологии Курского института социального образования (филиал) РГСУ, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 25.07.2012.