

ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ДИСФУНКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ С ДИСПЕПСИЕЙ

У новорожденных телят с диспепсией выявлено повышение агрегационной функций тромбоцитов *in vitro* и *in vivo*. В основе этих нарушений лежат нарушения соотношений холестерина и фосфолипидов в мембранах 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 повышение уровня тромбоксанообразования в кровяных пластинках. Активация тромбоцитов является ведущей причиной повышения свертывания крови у новорожденных телят с диспепсией. Коррекция нарушений тромбоцитарного звена гемостаза возможна с помощью патогенетически обоснованного комплекса из фосфопага, экоса и глюконата кальция, способного снижать уровень средних молекул в организме и корректировать перекисное окисление липидов.

Сдвиги в тромбоцитарном гемостазе у новорожденных телят с диспепсией способствуют развитию у них внутрисосудистого тромбообразования. Активация первичного гемостаза при диспепсии зависит во многом от усиления перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме животных, приводящего к запуску внутритромбоцитарных механизмов усиления их агрегации. До сих пор не разработаны подходы к быстрой эффективной коррекции функционального состояния тромбоцитов у телят с диспепсией с полным исключением риска тромбозов.

В настоящее время на практике используют препарат – фосфопаг (полигексаметиленгуанидин фосфат), который способен эффективно купировать диспепсию у новорожденных телят [4]. Было выдвинуто предположение о возможном повышении эффективности данного вещества по коррекции нарушений функций тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией с помощью сочетания фосфопага с сорбентом экос (гидроалюмосиликат) и глюконатом кальция.

Материалы и методы

Группа исследования представлена 26 новорожденными телятами с диспепсией. У больных телят отмечались все признаки диспепсии с ярко выраженной интоксикацией. Группу контроля составили 267 здоровых

новорожденных телят. Определялась активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы по содержанию ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО «Агат-Мед». Оценивали антиокислительный потенциал жидкой части крови [1], отражающий уровень в крови витаминов антиоксидантного действия. Внутритромбоцитарное ПОЛ находили по концентрации базального уровня (без прооксидантной стимуляции) малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислотой [7], в модификации [3]. Определяли уровень средних молекул (СМ) в плазме и отмытых, ресуспендированных тромбоцитах [2]. Производился подсчет количества тромбоцитов в капиллярной крови в камере Горяева. Агрегация тромбоцитов (АТ) исследовалась визуальным микрометодом [6] с использованием в качестве индукторов: АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М), коллагена (в стандартной концентрации разведение 1:2 основной суспензии), тромбина ($0,125$ ед/мл.), ристомицина ($0,8$ мг/мл) (НПО «Ренам»), адреналина гидрохлорид (5×10^{-6} М., рН -7,4, производства Гедеон Рихтер), а также сочетания АДФ и адреналина, АДФ и коллагена, адреналина и коллагена для моделирования реальных условий кровотока. Все растворы индукторов готовились каждый раз перед употреблением. Внутрисосудистая активность тромбоцитов (ВАТ) оп-

ределялась визуально с использованием фазово-контрастного микроскопа [5] по Шитиковой А.С. и соавт. (1997). Всем 26 телятам назначался 0,01% фосфопаг (полигексаметиленгуанидин фосфат) по 100,0 мл утром, 10% глюконат кальция по 10,0 мл в обед и экос (гидроалюмосиликат) по 150 мг/кг живой массы вечером в течение 10 дней. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования

У новорожденных телят с диспепсией имелось повышение ПОЛ, при этом концентрация ТБК-активных продуктов в плазме составила $5,16 \pm 0,12$ мкмоль/л, в контроле – $3,92 \pm 0,06$ мкмоль/л. Антиоксидантная активность плазмы больных животных была снижена ($21,2 \pm 0,06\%$), в контроле – $28,6 \pm 0,04\%$. Уровень МДА в тромбоцитах был повышен до $1,66 \pm 0,001$ нмоль/ 10^9 , в контроле – $0,89 \pm 0,02$ нмоль/ 10^9 , что свидетельствовало об активации в них свободно-радикального окисления (СРО) в связи с ослаблением внутритромбоцитарной антиокислительной активности. Уровни средних молекул в плазме составляли $СМ_{280} - 0,52 \pm 0,04$ усл ед, $СМ_{254} - 0,35 \pm 0,02$ усл ед, содержание средних молекул в тромбоцитах – $СМ_{280} - 0,065 \pm 0,02$ усл ед/ 10^9 , $СМ_{254} - 0,072 \pm 0,01$ усл ед/ 10^9 , достоверно превышая контрольные значения.

Применение сочетания фосфопага, экоса и глюконата кальция позитивно влияло на ПОЛ плазмы и тромбоцитов крови телят. Уменьшалось содержание ТБК-активных продуктов плазмы ($P < 0,01$). На 10 день лечения их концентрация составила $3,97 \pm 0,05$ мкмоль/л. С уменьшением продуктов ПОЛ в плазме отмечена нормализация $СМ_{280}$ до $0,32 \pm 0,09$ усл. ед, $СМ_{254} - 0,23 \pm 0,06$ усл. ед. Снижение выраженности ПОЛ плазмы шло параллельно с уменьшением базального уровня МДА в тромбоцитах после 10-го дня лечения ($0,90 \pm 0,03$ нмоль/ 10^9). При сочетанном назначении телятам фосфопага, экоса и

глюконата кальция нормализовался в тромбоцитах уровень $СМ_{280} - 0,050 \pm 0,06$ усл. ед/ 10^9 , $СМ_{254} - 0,054 \pm 0,01$ усл. ед/ 10^9 .

Содержание тромбоцитов в крови больных телят до и после лечения было в пределах нормы. У телят с диспепсией, до терапии, найдено ускорение АТ, особенно под влиянием коллагена ($20,3 \pm 0,05$ с). Несколько медленнее АТ развивалась у больных телят под влиянием АДФ ($36,0 \pm 0,10$ с) и ристомицина ($31,6 \pm 0,02$ с). Тромбиновая ($43,6 \pm 0,22$ с) и адреналиновая ($82,0 \pm 0,03$ с) АТ наступали позднее, но развивалась быстрее контроля ($54,0 \pm 0,02$ с и $97,0 \pm 0,45$ с, соответственно) ($P < 0,01$). Время развития АТ под влиянием сочетанного применения индукторов также было ускоренным (АДФ+адреналин – $22,0 \pm 0,05$ с, АДФ+коллаген – $20,0 \pm 0,01$ с, адреналин+коллаген – $19,0 \pm 0,02$ с).

При назначении сочетания фосфопага, экоса и глюконата кальция увеличивалось время АТ под влиянием всех индукторов. На 10 день лечения самым активным индуктором АТ сохранялся коллаген ($31,0 \pm 0,05$ с). Менее активны были – АДФ ($39,0 \pm 0,05$ с), ристомицин ($41,0 \pm 0,12$ с). Еще позднее развивалась АТ под влиянием тромбина и адреналина. Удлинилось время АТ при сочетании индукторов (АДФ+адреналин – $36,0 \pm 0,03$ с, АДФ+коллаген – $27,0 \pm 0,05$ с, адреналин+коллаген – $30,0 \pm 0,05$ с).

У телят с диспепсией наблюдалось повышение внутрисосудистой активности тромбоцитов. Уровень дискоцитов, определяемый визуально с фазовым контрастом по Шитиковой А.С. (1997), в крови больных телят составил $62,3 \pm 0,06\%$ (в контроле – $82,0 \pm 0,16\%$). Содержание диско-эхиноцитов было увеличено в 1,6 раз. Количество сфероцитов и сферо-эхиноцитов также значительно превышало контрольные значения ($13,2 \pm 0,04\%$ и $6,8 \pm 0,05\%$, соответственно). Сумма активных форм (сумма содержащих в кровотоке дискоэхиноцитов, сфероэхиноцитов, сфероцитов и биполярных форм) тромбоцитов ($37,7 \pm 0,02\%$) больных телят

была повышена в 2,09 раз, против контроля ($18,0 \pm 0,02\%$). Малых и больших агрегатов в их крови содержалось $16,2 \pm 0,05$ на 100 свободнолежащих тромбоцитов и $45,5 \pm 0,02$ на 100 свободнолежащих тромбоцитов, превышая в 4,5 и 45,8 раз контрольные значения ($3,6 \pm 0,04$ и $0,12 \pm 0,01$ на 100 свободнолежащих тромбоцитов, соответственно), причем количество тромбоцитов в агрегатах у больных животных ($14,0 \pm 0,02\%$) превышало контроль в 2,8 раза ($5,0 \pm 0,2\%$).

Назначение сочетания фосфопага, экоса и глюконата кальция больным диспепсией телятам позволило снизить внутрисосудистую активность тромбоцитов. К концу 10-дневного лечения выявлено достоверное увеличение неактивных форм тромбоцитов. Так, дискоидных тромбоцитов в крови больных на фоне применения фосфопага, экоса и глюконата кальция увеличилось до $82,3 \pm 0,6\%$. В конце лечения уровни дискоэхиноцитов, сфероцитов и сферо-эхиноцитов в крови животных достоверно уменьшились ($9,4 \pm 0,01\%$, $4,6 \pm 0,05\%$ и $2,7 \pm 0,3\%$, соответственно). Сумма активных форм тромбоцитов на фоне терапии фосфопагом, экосом и глюконатом кальция ($17,7 \pm 0,04\%$) соответствовала контролю ($18,0 \pm 0,2\%$). Число малых и больших агрегатов к 10 дню лечения достоверно снизилось в 4,37 и 36,6 раза, соответственно. Количество тромбоцитов в агрегатах достоверно снизилось до $5,0 \pm 0,09\%$, сравнявшись с контрольным уровнем ($5,0 \pm 0,2\%$).

Обсуждение

Усиленное ПОЛ в плазме и тромбоцитах телят при диспепсии говорит о снижении антиокислительной активности их жидкой части крови [1] и увеличении в плазме и тромбоцитах уровня СМ. Нормализация пероксидации и увеличение антиокислительного потенциала плазмы при снижении СМ на фоне лечения свидетельствуют о значимом нормализующем действии применения фосфопага, экоса и глюконата кальция на гоме-

остаз у новорожденных телят с диспепсией. Эффективность опосредована антимикробными свойствами (фосфопаг), сорбцией токсинов (экос) и повышением антиоксидантного потенциала жидкой части крови, увеличивая функциональные возможности клеток организма, в т. ч. желудочно-кишечного тракта телят (фосфопаг и глюконат кальция) [4].

Нормализация оцениваемых показателей гемостаза у телят на фоне сочетанного применения фосфопага, экоса и глюконата кальция говорит о его положительном влиянии на механизмы реализации тромбоцитарного гемостаза у новорожденных телят с диспепсией. Несомненно, это обусловлено коррекцией клинических проявлений диспепсии, снижением уровней ПОЛ и СМ в плазме и тромбоцитах с уменьшением чувствительности тромбоцитов к индукторам агрегации, о котором можно судить по увеличению времени агрегации. Активность агрегации тромбоцитов у новорожденных телят с диспепсией при назначении на 10-дневный срок фосфопага, экоса и глюконата кальция соответствовала группе контроля.

Достижение нормальной длительности АТ под влиянием ристомицина у новорожденных телят, находившихся на терапии фосфопагом, экосом и глюконатом кальция, говорит об оптимизации концентрации в крови адгезивной молекулы – фактора Виллебранда.

Полная нормализация ВАТ при лечении фосфопагом, экосом и глюконатом кальция у новорожденных телят с диспепсией позволяет нормализовать микроциркуляцию, т.к. содержание активных форм тромбоцитов и их агрегатов уже не способно при достигнутом их уровне блокировать капилляры [6]. Учитывая эффективность коррекции тромбоцитарных нарушений у новорожденных телят с диспепсией проведенным лечением можно рекомендовать исследуемое сочетание препаратов для широкого применения в животноводческих хозяйствах.

Выводы

1. Применение комплекса из фосфопага, эcosa и глюконата кальция у телят с диспепсией снижает активность перекисного окисления липидов и содержание СМ в их крови и тромбоцитах.

2. Использование в течение 10 дней фосфопага, эcosa и глюконата кальция у новорожденных телят с диспепсией нормализует состояние оцениваемых показателей тромбоцитарных функций, оптимизируя агрегационную способность тромбоцитов и внутрисосудистую активность кровяных пластинок.

Список использованной литературы:

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000.
2. Габриелян Н.И., Липатова В.И. и др. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Методические рекомендации. М. 1985.
3. Кубатиев А.А., Андреев С.В. Перекиси липидов и тромбоз. // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. 1979. - №5. - С. 414-417.
4. Наумов М.М., Медведев И.Н., Ефимов К.М. и др. Практические рекомендации по применению «Биопага-Д» и «Фосфопага» в ветеринарии. Москва, 2006.
5. Шитикова А.С., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов и его значение в клинической практике. //Клинич. и лабор. диагностика. 1997. - №2. - С. 23-35.
6. 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. 49-53.
7. Schmith J.V., Ingerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin production by human platelet // J.Lab. Clin. Med. 1976.-Vol. 88 (1). - p. 167-172.