

Особенности структурного построения фации сыворотки крови у телят при гастроэнтерите

А.П. Жуков, д.в.н., профессор; Е.Б. Шарафутдинова, к.б.н., Ю.В. Инюткина, аспирантка, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Перевод сыворотки крови (СК) из неустойчивого (жидкого) состояния в устойчивое (твёрдое) путём дегидратации при определённых стандартных условиях позволяет изучать её в качестве системы, имеющей характерную структуру и организацию, которые зависят в первую очередь от качественно-количественного состава и наличия/отсутствия патологических связей между компонентами. Морфологическая картина представляет возможность перевода данных о молекулярных взаимодействиях на макроуровень, доступный для визуального анализа [1].

В практической ветеринарной медицине исследования с использованием метода клиновидной дегидратации при изучении биологических жидкостей весьма ограничены. Имеются фрагментарные данные о структурном макропортрете СК позвоночных животных [2], верблюда бактриана [3], овец [4], коров при облучении крови низкоинтенсивным лазером [5], крыс при ишемии мозга и воздействии сероводорода [6, 7]. Отсутствуют сведения о возрастных, видовых изменениях в структуропостроении фаций СК, нет данных о маркерах при оценке состояния гомеостаза животных.

В связи с этим **целью** данной работы явилось изучение особенностей структуропостроения фаций СК телят 3-недельного возраста, больных острым катаральным гастроэнтеритом, на высоте развития патологического процесса.

Материал и методы исследования. Объектом для настоящего исследования послужили телята красной степной породы в количестве 30 гол. Из них были созданы две группы по 15 гол. в каждой: контрольная, в которую вошли клинически здоровые животные, принадлежащие СПК-колхозу «Урал» Оренбургского района, и опытная, состоящая из телят с манифестирующими признаками катарального гастроэнтерита. Телята опытной группы отставали в росте и развитии, имели выраженный дефицит массы тела.

Кровь у животных получали путём венопункции в вакуумные пробирки, в утренние часы до кормления. Для исследования методом клиновидной дегидратации 0,02 мл крови наносили на поверхность стандартного предметного стекла 75×25 мм, расположенного строго горизонтально. При данном объёме задаются необходимые параметры: угол кривизны поверхности капли составляет 25–30°, диаметр капли – 5–7 мм, средняя толщина – около 1 мм. В течение 18–24 часов образец высушивали при температуре 25°C и относительной влажности 65–70%.

При анализе сыворотки крови исследованию подверглись два объекта: исходная фация (ИФ), полученная из СК свежевзятой крови, и фация, полученная из СК, хранившейся в течение суток при температуре 4–8°C – суточная фация (СФ). Т.е. исследовали СК как в фазе текущих, так и в фазе завершённых биохимических процессов.

Изучение структурообразующих элементов дегидратированной капли проводили на микроскопе Levenhuk D870T при увеличении ×10; ×40; ×80, с фотофиксацией цветовой цифровой камерой C800NG. От каждой пробы крови готовили 2–3 стекла по три капли на каждом. В ходе исследования оценивали структуропостроение фации в целом и её локальных структур.

Фации исследуемой СК описывали по следующему плану: наличие зон, ширина периферической зоны, чёткость её границы; наличие трещин, их количество, расположение (радиальное, циркулярное, хаотичное) и форма (аркообразные, прямые, трёхлучевые) по зонам; наличие и форма конкреций; наличие аномальных структур.

С помощью специального приёма дегидратации капли СК получают сухую плёнку – фацию, которая представляет собой тонкий срез исследуемой жидкости. Структура фации СК (ФСК) является интегрированным образом всех имеющихся в ней многослойных молекулярных взаимосвязей, которые особым способом упорядочены и трансформированы на макроскопическом уровне. Любое изменение физико-химического состояния внутренней среды организма находит своё отражение в специфическом формообразовании структуры СК и предоставляет нам суммарную, сжатую информацию о состоянии организма. При патологических сдвигах в ФСК больного формируется адекватный рисунок, отражающий картину этих нарушений [8].

Морфологические и биохимические исследования СК проводили в комплексной аналитической лаборатории Оренбургского ГАУ с использованием общепринятых методик.

Полученные данные обработаны на персональном компьютере с использованием программы Statistica, версия 6,0.

Результаты исследования. Клинический статус телят на высоте развития катарального гастроэнтерита характеризовался неустойчивым аппетитом, угнетением, частой позой для дефекации, умеренной жаждой, периодическими усилениями перистальтики кишечника, сопровождающиеся громкими неравными по частоте и силе кишечными шумами. Кал у телят был жидкий, водянистый, содержал непереваренные частицы корма и слизь. При пальпации кожи в проекции сычуга и

кишечника выявлялась умеренная болезненность и напряжение тканей.

По морфологическим показателям крови больные телята уступали по гемоглобину и концентрации эритроцитов молодняку контрольной группы, но были более значимыми по наполнению крови лейкоцитами. Биохимический профиль крови больных телят по сравнению с аналогичными показателями здоровых характеризовался уменьшением содержания общего белка в крови на $17,87 \pm 0,73\%$, пониженным содержанием альбуминов, гамма-глобулинов, глюкозы, повышенным насыщением крови креатинином на фоне снижения концентрации мочевины.

По характеру структурного построения ФСК больных телят они распределились следующим образом: частично-радиальный тип был отмечен у $14,75 \pm 0,93\%$ телят, а иррадиальный – у всех остальных. У здоровых это соотношение было противоположным, а именно, почти у 90% телят был отмечен радиальный и частично радиальный тип фации (табл. 1). Причём ИФ больных телят существенно не изменялась в сравнении с СФ, что свидетельствовало об устойчивом патологическом состоянии гомеостаза у больных телят. У здоровых животных значительных изменений между структурами ИФ и СФ не обнаружено, обе фации имели гармоничное строение, что характерно для физиологически устойчивого состояния (табл. 1).

Оценивая характер трещин у телят с признаками гастроэнтерита и диспротеинемии, следует отметить обилие хаотичных трещин – до $15,13 \pm 0,93\%$ на каждую из обследованных фаций, у здоровых – до $5,21 \pm 0,13\%$. Кроме того, были выявлены укороченные трещины: у больных – до $18,51 \pm 1,39\%$, у здоровых – $3,18 \pm 0,26\%$. Радиальные трещины с полной длиной отсутствовали в 50% в ФСК больных и только в 12% случаев у здоровых телят. У здоровых телят основные трещины имели радиальную симметрию, по периферии фации они соединялись аркадными трещинами, а в центре их концы вливались друг в друга. Ранее было установлено [1], что степень симметричности расположения трещин по площади фации указывает на уровень физико-химической и биохимической гармонии СК, а значит является маркёром гармонии метаболизма.

Иррадиальный тип ФСК у больных телят имел в $35,49 \pm 1,71\%$ случаев частично завершённые конкреции, тогда как радиальный тип ФСК у

здоровых в $85,19 \pm 4,85\%$ случаях – завершённые и частично завершённые конкреции. Конкреции в фациях характеризуют энергетическую активность белковых молекул. Чем концентрированнее и чётче множественные конкреции в ФСК, тем выше энергетическая полноценность белковых молекул. Отсюда следует, что незавершённые конкреции ФСК у больных телят ($65,17 \pm 3,84\%$) напрямую отображали гипо- и диспротеинемии, т.е. их низкую энергетическую полноценность. Кроме того, в переходной зоне, ближе к периферии, в $40,24 \pm 1,93\%$ случаев была выявлена широкая зона «пустого поля» с редкими отдельностями, что ещё раз подтверждает наличие патологического процесса на фоне гипопроотеинемии. Ранее была обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием альбуминов СК и шириной краевой зоны её высохшей капли [9].

При патологических процессах в тканях организма клетки начинают продуцировать специфически изменённые структуры молекул белка, которые выбрасываются в общую циркуляцию. Методом клиновидной дегидратации СК создаются условия для системной и локальной самоорганизации этих молекул, которые формируют в ФСК специфические образования – маркёры, доступные для визуального анализа.

Установлен маркёр, который выявлен во всех И-фациях СК больных телят – это языковые структуры, которые в большинстве случаев были представлены фракталами Арнольда и реже Серпинского. Занимаемая площадь языковыми структурами в ФСК была различной от широких разветвлённых полей в 55% случаях, до нескольких (38%) и единичных (7%). Языковые структуры чаще всего регистрировались в краевой зоне (75%), реже – в промежуточной. В 80% случаев концевой участок фрактала был направлен к краю фации, в 15% случаев – к центру, а в остальных случаях, чаще всего единичных языков, ориентация была промежуточной. В двух случаях отмечены расщеплённые языковые структуры в промежуточной зоне фации, что является свидетельством перехода воспалительного процесса в хроническую стадию (табл. 2).

При исследовании С-фаций СК языковые поля не были обнаружены во всех препаратах больных телят, что согласно выводам Л.М. Обуховой и К.Н. Конторшиковой [10], попадает под определе-

1. Частота встречаемости типов структуропостроения фаций сыворотки крови телят, % ($X \pm Sx$)

Сыворотка крови телят		Тип фации		
		радиальный	частичнорадиальный	иррадиальный
Исходная	больные	–	$14,75 \pm 0,93$	$85,25 \pm 12,96$
	здоровые	$73,84 \pm 2,12$	$15,85 \pm 0,72$	$10,31 \pm 0,48$
Суточная	больные	–	$11,83 \pm 0,53$	$88,17 \pm 2,36$
	здоровые	$70,22 \pm 2,83$	$28,64 \pm 1,12$	$1,14 \pm 0,19$

2. Патологические структуры фаций сыворотки крови больных телят

Морфологический элемент	Исходная фация		Суточная фация	
	абсолютное число	%	абсолютное число	%
Языковые структуры	10	66,6	–	–
Двойная линия	9	60,0	2	13,3
Токсические бляшки	8	53,3	2	13,3
Трещины-закрутки	8	53,3	–	–
Шипы	8	53,3	10	66,6
Штриховые трещины	8	53,3	–	–
Широкие трещины	7	46,6	6	40,0
Широкие поля	–	–	4	26,4
Структуры типа «морщины»	–	–	2	13,3
Гребешковые структуры	–	–	2	13,3
Структура типа «лист»	–	–	2	13,3

ние как физиологически неустойчивые состояния гомеостаза, т.е. организм лабилен к воздействию факторов внешней среды или имеет слабые транзиторные функциональные нарушения.

В И-фации СК больных телят в 53,33% случаев выявляли цуг мелких штриховых трещин в краевой и промежуточной зонах фации. Появление их в ФСК указывает на способность к компенсаторному развитию микроциркуляторной сети для восстановления кровоснабжения жизненно важных органов, подверженных гипоксии или ишемии [11]. В С-фациях данный морфотип отсутствовал (табл. 2).

В девяти И-фациях и двух С-фациях СК больных телят регистрировали двойную линию, окаймляющую внешнюю границу фации, причём первая линия – это естественный контур, а вторая – следующая через небольшой промежуток – маркёр стрессового неустойчивого состояния организма больных телят. Кроме того, в краевой зоне фации СК локализуются альбумины [9], которые формируют заметную зону однотипного морфологического субъекта фаций. И если учитывать недостаточное насыщение альбуминами крови больных телят, то можно допустить, что появление второй линии в ФСК связано с уменьшением зоны присутствия альбуминов [12].

У пяти телят, больных гастроэнтеритом, в И-фациях СК выявили маркёры интоксикации в виде токсических бляшек – округлых образованиях мелкого, среднего или крупного размера, с отходящими горизонтально веерообразными складками и наличием в них точечных вдавлений по центру. У одного животного было 9 разнообразных бляшек, у двух – от 5 до 8, а у остальных регистрировали мелкие бляшки-вдавления или «токсический дождь». В С-фациях только у двух животных наблюдали мелкие бляшки, а у всех остальных появились структуры типа «морщины», которые отличались от бляшек отсутствием однородного пятна и тем, что короткие волоски (складки фации) располагаются под одинаковыми углами друг к другу. Следует отметить, что морщины являются локальным смещением рельефа фации с образованием параллельных складок на её поверхности и так же являются маркёром интоксикации организма.

К наиболее постоянным патологическим морфотипам фации СК больных телят следует отнести трещины «закрутки», представляющие собой тёмные спиралевидные линии в краевой зоне фации. У четырёх телят их количество варьировало от 9 до 16 шт., у остальных – от единичных образований и до 8 шт. Данные трещины являются показателем высокой напряжённости адаптационных механизмов гомеостаза [13]. В С-фациях СК больных телят закрутки отсутствовали во всех случаях.

К специфичности критериев системной организации СК у телят, страдающих гастроэнтеритом, следует отнести резко различимые по ширине трещины, что являлось ярким отличием от структур фации СК здоровых телят. Для них характерна неровность контуров трещин (72,3%), извитость (19,2%), трещины со слепым концом (9,5%). В С-фациях СК больных телят объекты И-фации сохранялись в полном объёме. Наличие подобных патологических структур в фациях СК больных телят является свидетельством нарушения гидрофильно-гидрофобного баланса организма из-за обезвоживания и диспротеинемии.

В 66,6% случаях в фациях СК больных телят были выявлены группы коротких штриховых трещин, расположенных под углом 30° к радиусу фации, напоминающие по форме шипы. Присутствие этого маркёра указывает на нарушение микроциркуляции в миокарде [1]. Количество шипов варьировало от единичных (6,7%), до 10 (43,3%), и от 11 до 20 – в 30,3% случаях, и выше 21 морфотипа – в 19,7%. Шипы были компактными с чёткими границами, в большинстве случаев (более 90%) отмечалась сдвоенность шипов, исходящих из обеих сторон трещины. Данный маркёр является устойчивым, так как определяется как в И-, так и С-фациях СК.

В С-фациях СК больных телят выявляли новые морфотипы, которых не было в И-фациях, к ним относятся «гребешковые» структуры в 13,3% фациях, в двух случаях структура типа «листа» и в четырёх фациях «широкие поля». Гребешковые структуры представляют собой линейные трещины с отходящими от них по одну сторону мелкими трещинами, напоминающие форму гребешка. Данный патологический морфотип состоит из

нескольких тупоугольных треугольников, длинные стороны которых параллельны между собой и всегда располагаются у границ фации. Эти структуры характерны при спазмах кровеносных сосудов и нарушении микроциркуляции.

Листовидные структуры являются признаками склеротических процессов, происходящих в кровеносных сосудах [6]. Они располагаются на большом расстоянии от центра фации, всегда окаймляют симметрично расположенные радиально направленные трещины. С учётом возраста телят мы предполагаем, что их появление связано с диспротеинемией, которая сопровождается избыточным накоплением в крови больных животных метаплазматических белков. Они отличались высокой гидратируемостью и в итоге формированием зоны усиленного стяжения, которая в структуре фации представлена разворотом в виде «листа».

Выводы. Патологический процесс вызывает в молекулярных структурах СК больных телят изменения, которые визуализируются в её дегидративных каплях (фациях), полученных методом клиновидной дегидратации. Данные изменения в ФСК свидетельствуют о развитии патологического процесса в организме телят, который сопровождается интоксикацией, гипоксией, ишемией, диспротеинемией, высокой напряжённостью адаптационных механизмов гомеостаза, но не являются специфичными для катарального гастроэнтерита. ФСК больных животных характеризуется низким уровнем структурированности и нечёткостью основных её элементов, что позволяет отнести её к депрессивному типу. Наиболее частыми сочетаниями маркёров являются: языковые структуры + двойная линия + трещины закрутки и шипы (53,3% случаев), токсические бляшки + языковые структуры + штриховые и широкие трещины (40%). И первое, и второе сочетание маркёров сопро-

вождается яркими клиническими симптомами и характеризует высоту развития патологического процесса.

Литература

1. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом, 2001. 303 с.
2. Обухова Л.М., Дерюгина А.В., Никифорова О.Н. Видовые различия структурного макропортрета сыворотки крови позвоночных // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. № 2 (2). С. 287–293.
3. Габунщина О.Д. Использование морфологического анализа сыворотки крови верблюдов бактрианов калмыцкой породы в селекционно-племенной работе // Естественные науки. 2011. № 1 (340). С. 165–172.
4. Шакиров Ж.М., Кадиков И.Р. Клиновидная дегидратация СК овец при отравлении диоксином // Матер. междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 40-летию ГНУ ВНИВИПФит. Воронеж, 2010. С. 211–213.
5. Пат. № 2519725 РФ Способ оценки воздействия на организм животных низкоинтенсивного лазерного облучения крови / Голубцов А.В., Шахов А.Г., Толубцов С.В.; зарег. 16.04.2014 г. Бюл. № 4.
6. Шатохина С.Н., Александрин В.В., Шабалин В.Н. Структуры сыворотки крови в интегральной оценке патофизиологических изменений в организме при экспериментальной ишемии головного мозга // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016. Т. 60. № 4. С. 168–173.
7. Тризно Н.Н., Беднов И.А., Резаев А.А. Морфологические особенности биожидкостей организма крыс при хроническом воздействии серосодержащего газа // Вестник новых медицинских технологий. 2003. Т. X. № 1-2. С. 23–24.
8. Максимов М.А. Морфология твердой фазы биологических жидкостей как метод диагностики в медицине // Бюллетень сибирской медицины. 2007. № 4. С. 80–85.
9. Обухова Л.М., Контрощикова К.Н. Определение локализации групп белков в высохшей капле сыворотки крови при помощи красителей // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2008. № 3. С. 116–119.
10. Обухова Л.М., Контрощикова К.Н. Структурная организация белков плазмы крови при интоксикации организма // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2010. № 1. С. 73–79.
11. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. Атлас структур клеточных тканей человека в норме и патологии. Тверь: Изд-во ООО «Триада», 2013. Т. 2. С. 27–31.
12. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике // Клиническая лабораторная диагностика. 2002. № 2. С. 25–32.
13. Бузовера М.Э., Шербак Ю.П., Шишпор И.В. Количественная оценка микроструктурной неоднородности фаций биожидкостей // Журнал технической физики. 2014. Т. 84. Вып. 10. С. 133–138.