

## ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 619:616:41:636.12:611.4

## Співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку

Анфьорова М.В., Брошков М.М., Данчук О.В.

Одеський державний аграрний університет

✉ Брошков М.М. mr\_m\_m@ukr.net, Данчук О.В. olexdan@ukr.net



Анфьорова М.В., Брошков М.М., Данчук О.В. Співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 81–87.

Anforova M.V., Broshkov M.M., Danchuk O.V. Spivvidnoshennja populjacij erytrocytiv u krvi cudenjat u postnatal'nyj period rozvytku. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 81–87.

Рукопис отримано: 06.10.2019р.

Прийнято: 02.11.2019р.

Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-81-87

У статті наведено нові наукові дані щодо співвідношення популяцій еритроцитів у цуценят службових порід у постнатальний період. Встановлено, що у однодобових цуценят кількість еритроцитів у крові становить  $5,64 \pm 0,12$  Т/л, причому половина з них належала до популяції «зрілих», 40 % – «молодих» і 10 % – «старих» клітин. При цьому в них уміст продуктів перексидного окиснення ліпідів у гемолізатах еритроцитів досить високий, що, напевно, свідчить про розвиток постнатального оксидативного стресу. Так, концентрація крові дієнових кон'югатів, кетодієнів і основ Шиффа становить відповідно  $1,406 \pm 0,023$ ;  $0,676 \pm 0,004$  та  $0,135 \pm 0,003$  ум. од. У період 1–5-добового віку цуценят відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) за рахунок зменшення кількості «зрілих» клітин (у 1,6 раза;  $p < 0,001$ ). Інтенсивність перексидного окиснення у організмі цуценят навіть через місяць після народження відносно висока, про що свідчить концентрація в еритроцитах крові основ Шиффа –  $0,185 \pm 0,002$  ум. од. Встановлено обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа у еритроцитах з їх кількістю у кров'яному руслі –  $r = -0,83$  ( $p < 0,001$ ). Слід також відмітити прямі кореляційні зв'язки вмісту дієнових кон'югантів з кількістю еритроцитів у крові цуценят ( $r = 0,58$   $p < 0,05$ ), причому вміст кетодієнів і парних триєнів обернено пов'язаний з вмістом «молодих» еритроїдних клітин у крові цуценят ( $r = -0,57$   $p < 0,05$ ). Отже, внаслідок постнатальної адаптації цуценят проходить заміна еритроцитів плода на постнатальні клітини. Цей процес пов'язаний з інтенсифікацією перексидного окиснення і накопиченням у клітинах кінцевих продуктів пероксидації, що супроводжується посиленням процесу «старіння» молодих форм еритроцитів, внаслідок чого створюються передумови до розвитку анемії.

**Ключові слова:** еритроцити, оксидативний стрес, цуценята, основи Шиффа, кетодієни, дієнові кон'югати.

**Постановка проблеми.** Одразу після народження в організм надходить значна кількість Оксигену, що викликає стрімку інтенсифікацію окисно-відновних реакцій, тому новонароджені особливо схильні до оксидативного стресу [1]. Попри підвищену концентрацію Оксигену в їх крові, причинами розвитку цього стану є зниження активності антиоксидантної системи, високий уміст вільного Феруму (підсилює утворення вільних радикалів), різноманітні інфекції, запалення тощо [2]. Оксидативний стрес, зумовлений дисбалансом між прооксидантними та антиоксидантними

силами, призводить до інтенсифікації перексидного окиснення ліпідів та накопичення в організмі токсичних проміжних і кінцевих продуктів пероксидації [1–5]. Розвиток постнатального оксидативного стресу в новонароджених ссавців є фізіологічним процесом і запускає ряд адаптаційних реакцій. З'ясовано, що вільні радикали беруть участь у перивентрикулярній лейкомаляції [3–7] та певною мірою регулюють легеневий кровообіг [8]. Крім цього, активні форми Оксигену забезпечують низку фізіологічних функцій від фагоцитозу, мітозу та апоптозу клітин до синтезу біологічно актив-

них речовин та ротації ліпідно-протеїнового складу плазмолемі клітин [1].

Відомо [8], що функціональні властивості еритроцитів залежать від характеристик мембранних компонентів клітини та їх розподілу між двома бішарами. Причому, однією з основних умов забезпечення виконання їх функцій є стабільність ліпідної фази [9]. Ліпіди плазмолемі еритроцитів надзвичайно чутливі до вільнорадикальної модифікації, а тому оцінка показників, що характеризують рівень пероксидного окиснення ліпідів у еритроцитах свідчить про функціональні зміни не тільки оксигено-транспортної функції, але й усього організму загалом [9–10].

Еритроцити крові складаються із різновікових популяцій, які за фракціонування у градієнті густини сахарози розшаровуються на “молоді”, “зрілі” і “старі” клітини. Ця здатність клітин визначається не лише їх віком, але й характеризує їх функціональний стан [9]. Співвідношення популяцій еритроцитів залежить від віку тварин, статі, фізіологічного стану та інших численних чинників. Поряд з цим є певна інформація щодо популяційного складу червоної крові у собак різного віку, породи та фізіологічного стану [10], однак інформація стосовно популяційного їх складу в період постнатальної адаптації та зв'язку з інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів у організмі тварин відсутня.

#### **Аналіз останніх досліджень і публікацій.**

За постнатального оксидативного стресу спостерігається збільшення генерації активних форм Оксигену поряд із низькою ефективністю природних антиоксидантних систем, особливо у недоношених [3, 5], відбувається наростання деструктивних процесів. У плазмі новонароджених виявлено високий уміст продуктів радикальної модифікації білків та ліпідів [7]. За певних умов це може супроводжуватись проявом ряду патологічних станів, які O.D. Saugstad [3] об'єднує у «киснево-радикальні захворювання неонатології». Відмічено, що розвиток оксидативного стресу справляє певний вплив на функції окремих органів і навіть систем. Причому, клінічні ознаки залежать від того, яка система уражена більшою мірою. Так, до цих порушень неонатального періоду відносять бронхолегеневу дисплазію, ретинопатію недоношеності та некротизуючий ентероколіт. Вільні радикали і пов'язані з ними молекулярні пошкодження є критичними компонентами декількох захворювань новонароджених [3, 5, 11–14]. Водночас низький рівень у цуценят активності як специфічної, так і неспецифічної ланки імунного захисту [15–16], поряд із стре-

совим станом істотно зменшує резистентність організму.

Порівняно зі дорослими тваринами, у новонароджених достовірно менші рівні антиоксидантів, таких як токоферол, ретинол,  $\beta$ -каротин, мелатонін, церулоплазмін та трансферин, поряд із меншою активністю ензимів системи антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза та ін.) створюють передумови для інтенсифікації вільнорадикальних реакцій в організмі [3–5]. Вони можуть спричинювати пошкодження біологічних молекул, що призводить до порушення функціональних властивостей та загибелі клітин [1]. Розвиток постнатального оксидативного стресу у свиней супроводжується накопиченням у крові продуктів пероксидації навіть за відносно високої активності системи антиоксидантного захисту [17]. Вторинні продукти пероксидації, такі як малоновий діальдегід, дієнові та триєнові кон'югати, токсичні для організму, тому вони знешкоджуються шляхом взаємодії із аміногрупами різних органічних сполук з утворенням основ Шиффа [18].

Отже, актуальним напрямом досліджень є визначення співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку та встановлення його залежності від умісту продуктів пероксидації ліпідів у цих клітинах.

**Мета дослідження** – визначити співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят та вплив на нього інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили на клінічно здорових новонароджених цуценятах різної статі, отриманих від сук службових порід 2–3-річного віку. Усього для досліджень було підібрано 20 цуценят від 5 сук аналогів за масою тіла. Матеріалом для досліджень була кров цуценят отримана з яремної вени у одно-, п'яти- та тридцятидобовому віці. У крові тварин визначали кількість еритроцитів (пробірковий метод), їх популяційний склад – методом фракціонування у градієнті густини сахарози за І.Сизовою [19]. Крім цього, у гемолізатах еритроцитів визначали вміст дієнових кон'югатів, кетодієнів і спарених триєнів та основ Шиффа – спектрофотометричним методом [19], принцип якого базується на тому, що процес пероксидного окиснення ліпідів супроводжується переорієнтацією подвійних зв'язків із виникненням специфічних оптичних властивостей. При чому максимум поглинання за 232 нм мають дієнові кон'югати, 273 нм – кетодієни і парні триєни та 400 нм – основи Шиффа.

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично: визначали середньоарифметичну величину (M), середньоквадратичну помилку (m) і вірогідність різниці (p) між досліджуваними показниками за критерієм Стюдента. Коефіцієнт кореляції (r) розраховували методом Пірсона за допомогою прикладного програмного комплексу «Microsoft Office Excel 2016».

**Результати дослідження.** Аналіз отриманих результатів свідчить, що у однодобових цуценят кількість еритроцитів у крові становила  $5,64 \pm 0,12$  Т/л, що знаходиться у фізіологічних межах. Половина цих клітин належала до популяції «зрілих» клітин, майже 40 % – «молоді» і лише 10 % – «старі» (табл. 1). Крім цього слід відмітити, у однодобових цуценят, унаслідок розвитку постнатального оксидативного стресу, виявився високим уміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гемолізатах еритроцитів. Так, показники дієнових кон'югатів, кетодієнів та основ Шиффа становили відповідно  $1,406 \pm 0,023$ ;  $0,676 \pm 0,004$  та  $0,135 \pm 0,003$  ум. од.

З одно- до п'ятидобового віку цуценят відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові в 1,53 раза ( $p < 0,001$ ). Причому, кількість

молодих форм збільшується недостовірно, тоді як «зрілих» – зменшується у 1,6 раза ( $p < 0,001$ ). Надалі до тридцятидобового віку цуценят у їх крові кількість еритроцитів збільшується лише на 10 % ( $p < 0,05$ ), і становить  $4,04 \pm 0,15$  Т/л (lim – 3,0–4,6 Т/л). Більше 60 % цих клітин належать до «зрілих» еритроцитів, а кількість «молодих» клітин у 3 рази менша від «зрілих» ( $p < 0,001$ ). Інтенсивність пероксидного окиснення у цуценят місячного віку досить висока, на що вказує вміст основ Шиффа у еритроцитах крові тварин –  $0,185 \pm 0,002$  ум. од.

Встановлено обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа в еритроцитах з їх кількістю у кров'яному руслі –  $r = -0,83$  ( $p < 0,001$ ). Якщо оцінювати ці зв'язки через призму популяційного складу клітин, то потрібно відмітити, що вони достовірні лише у «старих» форм та змінюють свій напрямок –  $r = 0,83$  ( $p < 0,001$ ). Таким чином, можемо достовірно стверджувати, що до 53 % варіацій кількості «старих» еритроцитів у крові і до 73 % варіацій загальної кількості еритроцитів у крові цуценят першого місяця життя залежать від рівня основ Шиффа в цих клітинах (табл. 2).

Таблиця 1 – Динаміка показників еритроцитів крові цуценят протягом першого місяця життя ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Показник		Вік цуценят		
		1-добові	5-добові	30-добові
Популяційний склад еритроїдних клітин				
Кількість еритроцитів, Т/л		$5,64 \pm 0,12$	$3,68 \pm 0,11^{***}$	$4,04 \pm 0,15^*$
Популяція, %	«молоді»	$39,6 \pm 1,0$	$42,8 \pm 2,4$	$18,4 \pm 1,3^{***}$
	«зрілі»	$50,0 \pm 1,1$	$31,6 \pm 2,9^{***}$	$63,0 \pm 1,0^{***}$
	«старі»	$10,4 \pm 0,9$	$25,6 \pm 1,7^{***}$	$18,6 \pm 1,1^{***}$
Інтенсивність ПОЛ у еритроцитах				
Дієнові кон'югати, $E_{232}/E_{220}$		$1,406 \pm 0,023$	$1,182 \pm 0,018^{***}$	$1,149 \pm 0,020$
Кетодієни і спарені трисени, $E_{278}/E_{220}$		$0,676 \pm 0,004$	$0,615 \pm 0,019^{***}$	$0,725 \pm 0,021^{***}$
Основи Шиффа, $E_{400}/E_{220}$		$0,135 \pm 0,003$	$0,204 \pm 0,003^{***}$	$0,185 \pm 0,002^{***}$

**Примітка:** Тут і надалі вірогідність різниці з попереднім етапом досліджень:  $p < 0,05$  -\*;  $p < 0,01$  -\*\*;  $p < 0,001$  -\*\*\*.

Таблиця 2 – Кореляційні зв'язки популяційного складу еритроцитів з інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів у їх гемолізаті ( $r$ ;  $n=15$ )

Показник	Дієнові кон'югати, $E_{232}/E_{220}$		Кетодієни і парні трисени, $E_{278}/E_{220}$		Основи Шиффа, $E_{400}/E_{220}$		
	$r$	D	$r$	D	$r$	D	
К-ть еритроцитів, Т/л	0,58*	0,33*	-0,02	0,00	-0,85***	0,73***	
Популяція, %	«молоді»	0,25	0,06	-0,57*	0,33*	-0,20	0,04
	«зрілі»	0,08	0,01	0,49	0,24	-0,22	0,05
	«старі»	-0,54*	0,29	0,00	0,00	0,73***	0,53***

Слід також відмітити прямі кореляційні зв'язки вмісту дієнових кон'югантів у крові цуценят з кількістю еритроцитів у їх крові ( $r=0,58$   $p<0,05$ ), причому вони обернені з вмістом «старих» клітин ( $r=-0,54$   $p<0,05$ ), а вміст кетодієнів і спарених триєнів обернено пов'язаний з вмістом «молодих» еритроїдних клітин у крові цуценят ( $r=-0,57$   $p<0,05$ ).

**Обговорення.** З першим подихом повітря в організмі новонароджених значно зростає парціальний тиск Оксигену, що супроводжується суттєвою інтенсифікацією метаболізму [5]. З одного боку, це запускає низку адаптаційних реакцій, що забезпечують існування індивідуума у нових умовах, а з іншого, збільшується генерація активних форм Оксигену в дихальному ланцюзі мітохондрій, що супроводжується інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів у організмі новонароджених тварин [1].

Відомо [9], що протягом перших тижнів, і навіть місяців життя у організмі новонароджених свавців відбувається заміна фетального HbF на нормальний HbA [21, 22]. Трансформація форми еритроцитів та «старіння» еритроцитів плода в постнатальний період супроводжуються структурною модифікацією мембран, що ініціює зміну її антигенних детермінант, і розпізнаванням старих еритроцитів макрофагами. Причому, в цьому випадку зміна фізичних властивостей клітинної мембрани має вільнорадикальний прояв. Так, збільшення кількості «старих» еритроїдних клітин в крові цуценят до п'ятидобового віку життя майже у 2,5 рази ( $p<0,001$ ) супроводжується збільшенням у гемолізаті еритроцитів вмісту кінцевих продуктів пероксидації – основ Шиффа (у 1,52 рази;  $p<0,001$ ), які накопичуються у клітинних мембранах.

Загалом, внаслідок розвитку постнатального оксидантного стресу в цуценят до п'ятидобового віку відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові (у 1,53 рази;  $p<0,001$ ). Цей процес відбувається за рахунок прискореного старіння еритроцитів, оскільки кількість молодих форм збільшується у межах тенденції, а «зрілих» – зменшується достовірно (у 1,6 рази;  $p<0,001$ ). Це узгоджується із даними [9], які вказують на те, що термін життя еритроцитів у кров'яному руслі новонароджених становить близько 12 діб.

Хоча продукти пероксидного окиснення ліпідів у помірних концентраціях є нормальними метаболітами обміну речовин і необхідні для ряду фізіологічних механізмів гомеостазу, однак за надмірного накопичення їх у організмі вони проявляють свою токсичну дію [14]. Основи Шиффа є продуктами взаємодії вторин-

них продуктів пероксидного окиснення ліпідів з аміновмісними сполуками [17, 18]. Вони здатні накопичуватись на еритроїдних мембранах, що їх дестабілізує і сприяє деструкції клітин. Виявлені обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа з кількістю у кров'яному руслі еритроцитів ( $p<0,001$ ) вказують на те, що однією з основних причин порушення функцій мембран є їх вільнорадикальна модифікація. На підтвердження цього слід відмітити, що серед усіх популяцій еритроцитів, вміст основ Шиффа достовірно пов'язаний лише з кількістю «старих» форм клітин ( $p<0,001$ ).

Протягом фізіологічної постнатальної адаптації з п'яти- до тридцятидобового віку цуценят у їх крові кількість еритроцитів збільшується лише на 10 % ( $p<0,05$ ). Хоча більше 60 % цих клітин належать до «зрілих» еритроцитів, створюються передумови для розвитку анемії, оскільки кількість «молодих» клітин у 3 рази менша від «зрілих» ( $p<0,001$ ), а інтенсивність пероксидного окиснення у цих клітинах все ще висока, на що вказує накопичення у них кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів – основ Шиффа ( $0,185\pm 0,002$  ум. од.).

Ймовірно, що антиоксидантна терапія може бути корисною для корекції стану цуценят, пов'язаного з оксидантним стресом, але для визначення найбільш ефективної антиоксидантної терапії необхідні подальші дослідження. Крім цього, застосування різних сполук Феруму для попередження анемії теоретично може стимулювати утворення вільних радикалів, що прискорять старіння червоних клітин крові і матиме обернений ефект щодо очікуваного. Таким чином, розробка нових і сучасних методів та способів профілактики постнатальної анемії цуценят із застосуванням природних антиоксидантів різного походження є актуальним завданням сучасної ветеринарії.

**Висновки.** Отже, в період постнатальної адаптації цуценят відбувається заміна еритроцитів плода на постнатальні клітини, причому цей процес пов'язаний з інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів у цих клітинах і накопиченням у них кінцевих продуктів пероксидації. Це супроводжується прискоренням процесу «старіння» молодих форм еритроцитів, внаслідок чого створюються передумови до розвитку анемії.

**Відомості про дотримання етичних норм.** Експериментальні дослідження проведені із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та узгоджуються з основними принципами «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що ви-



користовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), декларації “Про гуманне ставлення до тварин” (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах” (Київ, 2001).

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори статті стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Данчук В. В., Данчук О. В., Цепко Н.Л. Оксидативний стрес – патологія чи адаптація? Тваринництво України. 2004. № 4. С. 21–23.
2. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1999. Vol. 344. P. 721–724.
3. Saugstad O.D. Oxidative stress in the newborn – a 30-year perspective. *Biol Neonate*. 2005. Vol. 88. P. 228–236.
4. Causes of oxidative stress in the pre-and perinatal period / E. Gitto et al. *Biol Neonate* 2002. Vol. 81. P. 146– 157.
5. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin / E. Gitto et al. Vol. 46. Issue 2. 2009. P. 128–139. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00649.x>
6. Salyha N. O. Effects of L-glutamic acid and pyridoxine on glutathione depletion and lipid peroxidation generated by epinephrine-induced stress in rats. *Ukr. Biochem. J*. 2018. Vol. 90. N 4. P. 102–110. Doi: <https://doi.org/10.15407/ubj90.04.102>
7. Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia / R.L. Haynes et al. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003. Vol. 62. P. 441–450.
8. Васильева Е.М. Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии. Биомед. химия. 2005. Т. 51. Вып. 2. С. 118–126.
9. Поэтова В.Т., Гительзон И. И., Терсков И. А. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Москва, 1967. С. 81–85.
10. Анфорова М.В., Головаха В.І., Піддубняк О.В., Тишківський М.Я. Зміни властивостей еритроцитів у собак. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2016. Т. 18. № 3 (71). С. 3–6. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7101>.
11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. (1972). Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 252 с.
12. Данчук О.В., Іскра Р.Я., Цепко Н.Л. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та популяційний склад еритроїдних клітин крові поросят з різною живою масою при народженні. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. Львів, 2004. Вип. 5. № 3. С. 27–31.
13. Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life / G. Buonocore et al. *Pediatr Res*. 2002. Vol. 52. P. 46–49. Doi: <https://doi.org/10.1203/00006450-200207000-00010>
14. Total hydroperoxide advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies / G. Buonocore et al. *Pediatr Res*. 2000. Vol. 47. P. 221–224.

15. Sanderud J., Bjoro K., Saugstad O.D. Oxygen radicals stimulate thromboxane and prostacyclin synthesis and induce vasoconstriction in pig lungs. *Scand J Clin Lab Invest*. 1993. Vol. 53. P. 447– 455.

16. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у еритроцитах поросят за дії міцелярної форми токоферолу / О.В. Данчук та ін. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2016. Вип. 237. С. 164–170.

17. Брошков М.М. Динаміка показників клітинного імунітету у цуценят упродовж неонатального періоду. Біологія тварин. 2015. № 1, т. 17. С. 16–21.

18. Брошков М.М. Утворення специфічних антитіл у цуценят за різних гематологічних показників. Аграрний вісник Причорномор'я. Сер. Ветеринарні науки. 2014. Вип. 72. С. 12–17.

19. Данчук О.В. Перекисне окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту в організмі свиней з різними типами вищої нервової діяльності: автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.13; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. Київ, 2018. 46 с.

20. Danchuk O.V., Karpovskiy V.I., Trokoz V.O., Postoi R.V. Regulation mechanisms of cortisol level in pigs' blood serum under stress. *Fiziol. Zh*. 2017. Vol. 63(6). P. 60–65. Doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.06.060>.

21. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізко та ін. Львів: Сполом, 2012. 760 с.

22. Власенко В.М., Тихонюк Л.А., Рубленко М.В. Оперативна хірургія, анестезіологія і топографічна анатомія. Спеціальна частина. Біла Церква, 2006. 544 с.

#### REFERENCES

1. Danchuk, V.V., Danchuk, O.V., Cepko, N.L. (2004). Oksydacijnyj stress –patologija chy adaptacija? [Oxidative Stress - Pathology or Adaptation?]. *Zhurnal Tvarynnyctvo Ukrainy* [Livestock of Ukraine]. no. 4, pp. 21–23.
2. Halliwell, B. (1999). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. Vol. 344, pp. 721–724.
3. Saugstad, O.D. (2005). Oxidative stress in the newborn – a 30-year perspective. *Biol Neonate*. Vol. 88, pp. 228–236.
4. Gitto, E., Reiter, R.J., Karbownik, M. (2002). Causes of oxidative stress in the pre-and perinatal period. *Biol Neonate*. Vol. 81, pp. 146–157.
5. Gitto, E., Pellegrino, S., Gitto, P., Barberi, I., Russel, J. Reiter. (2009). Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. Vol. 46, Issue 2, pp. 128–139. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00649.x>
6. Salyha, N.O. (2018). Effects of L-glutamic acid and pyridoxine on glutathione depletion and lipid peroxidation generated by epinephrine-induced stress in rats. *Ukr. Biochem. J*. Vol. 90, no. 4, pp. 102–110. Doi: <https://doi.org/10.15407/ubj90.04.102>
7. Haynes, R.L., Folkerth, R.D., Keefe, R.J. (2003). Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia. *J Neuropathol Exp Neurol*. Vol. 62, pp. 441–450.

8. Vasileva, E.M. (2005). Biokhimicheskie osobennosti eritrocitov [Biochemical features of the red blood cell]. Vliyanie patologii [The influence of pathology]. Biomed chemistry. Vol. 51, Issue 2, pp. 118–126.
9. Poetova, V.T., Gitelson, I. I., Terskov, I. A. (1967). Voprosy biofiziki, biokhimii i patologii eritrocitov [Questions of biophysics, biochemistry and erythrocyte pathology]. Moscow, pp. 81–85.
10. Anf'orova, M.V., Golovaha, V.I., Piddubnjak, O.V., Tyshkiv's'kyj, M.Ja. (2016). Zminy vlastyvostrych erytrocytiv u sobak [Changes in erythrocyte properties in dogs]. Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyckogo [Scientific Bulletin of the LNUVM and named after S. Z. Zhytskyj]. Vol. 18, no. 3 (71), pp. 3–6. Doi: <https://doi.org/10.15421/nlvvet7101>.
11. Vladimirov, Ju.A., Archakov, A.I. (1972). Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranah [Lipid peroxidation in biological membranes]. M.: Science, 252 p.
12. Danchuk, O.V., Iskra, R.Ya., Czepko, N.L. (2004). Intensivnist perekisnogo okisnennya lipidiv ta populyacijnij sklad eritroyidnykh klitin krovi porosyat z riznoyu zhivoyu masoyu pri narodzhenni [Intensity of peroxide oxidation and the popular stock of erythrocytes of blood piglets with live live oil during birth]. Naukovo-tekhnichnij byuleten Institutu biologiyi tvarin [Science and technology bulletin to the Institute of Biological Creature]. Lviv, Issue 5, no. 3, pp. 27–31.
13. Buonocore, G., Perrone, S., Longini, M. (2002). Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life. *Pediatr Res.* Vol. 52, pp. 46–49. Doi: <https://doi.org/10.1203/00006450-200207000-00010>
14. Buonocore, G., Perrone, S., Longini, M., Terzuoli, L., Bracci, R. (2000). Total hydroperoxide advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res.* Vol. 47, pp. 221–224.
15. Sanderud, J., Bjoro, K., Saugstad, O.D. (1993). Oxygen radicals stimulate thromboxane and prostacyclin synthesis and induce vasoconstriction in pig lungs. *Scand J Clin Lab Invest.* Vol. 53, pp. 447–455.
16. Danchuk, O.V., Postoj, R. V., Karpovskij, V. V., Klyuczuk, M. R., Skripkina, V. M., Karpovskij, V. I., Zheltonozhska, T. B., Permyakova, N. M. (2016). Intensivnist peroksidnogo okisnennya lipidiv u eritrocitakh porosyat za diyi miczelyarnoyi form tokoferolu [The intensity of oxidative oxidation of lipids in erythrocytes of piglets due to the secondary form of tocopherol]. Naukovij visnyk Nacjonalnogo universitetu bioresursiv i prirodokoristuvannya Ukrainy [Science News of the National University of Natural Resources and Nature Protection of Ukraine]. Seriya: Veterinarna medycyna, yakisti bezpeka produkciji tvarinnictva [Seriya: Veterinary medicine, product and non-food products]. Issue 237, pp. 164–170.
17. Broshkov, M.M. (2015). Dynamika pokaznykiv klitynnoho imunitetu u tsutseniat uprodovzh neonatalnogo periodu [Dynamics of indicators of cellular immunity in puppies during the neonatal period]. *Biologii atvryn [Biological animals]*. no. 1, Vol. 17, pp. 16–21.
18. Broshkov, M.M. (2014). Utvorennia spetsyfychnykh antytil u tsutseniat za riznykh hematolohichnykh pokaznykiv [Formation of specific antibodies in puppies by different hematological parameters]. *Ahramy visnyk Prychornomori [Agrarian Bulletin of the Black Sea]*. Ser. Vetrynarni nauky [Series Veterinary Sciences]. Issue 72, pp. 12–17.
19. Danchuk, O.V. (2018). Peroksidne okisnennya lipidiv ta aktivnist sistemi antioksidantnogo zakhistu v organizmi svinej z riznimi tipami vishhoyi nervovoyi diyalnosti: avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk: 03.00.13; Nacz. un-t bioresursiv i prirodokoristuvannya Ukrainy [Lipid peroxidation and activity of the antioxidant protection system in pigs with different types of higher nervous activity: abstract of dissertation of Doctor of Veterinary Sciences: 03.00.13; National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine]. Kyiv, 46 p.
20. Danchuk, O.V., Karpovskij, V.I., Trokoz, V.O., Postoi R.V. (2017). Regulation mechanisms of cortisol level in pigs' blood serum under stress. *Fiziol. Zh.* Vol. 63(6), pp. 60–65. Doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.06.060>.
21. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratych, I.B. (2012). Laboratorni metody doslidzhennja u biologii, tvarynnyctvi ta vetrynarnij medycyni [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv: Spolom, 760 p.
22. Vlasenko, V.M., Tyhonjuk, L.A., Rublenko, M.V. (2006). Operatyvna hirurgija, anesteziologija i topografichna anatomija [Operative surgery, anesthesiology and topographic anatomy]. *Special'na chastyna [The special part]*. Bila Tserkva, 544 p.

#### Соотношение популяций эритроцитов в крови щенков в постнатальный период развития

Анферова М.В., Брошков Н.Н., Данчук А.В.

В статье приведены новые научные данные о соотношении популяций эритроцитов в щенков служебных пород в постнатальный период. Установлено, что в одностаточный щенков количество эритроцитов в крови составляет  $5,64 \pm 0,12$  Т/л, причем, половина из них относится к популяции «зрелых», 40 % – «молодых» и 10 % – «старых». При этом у них содержание продуктов перекисного окисления липидов в гемолизатах эритроцитов достаточно высокое, что указывает на развитие постнатального оксидационного стресса. Так, концентрация диеновых конъюгатов, кетодиенив и оснований Шиффа составляет соответственно  $1,406 \pm 0,023$ ;  $0,676 \pm 0,004$  и  $0,135 \pm 0,003$  усл. ед. В период 1–5-суточного возраста щенков происходит уменьшение количества эритроцитов в крови в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), за счет уменьшения количества «зрелых» клеток (в 1,6 раза;  $p < 0,001$ ). Интенсивность перекисного окисления в организме щенков даже через месяц после рождения относительно высокая, про что свидетельствует концентрация в эритроцитах крови оснований Шиффа –  $0,185 \pm 0,002$  усл. ед. Установлено обратные корреляционные связи содержания оснований Шиффа в гемолизате эритроцитов с их количеством в кровяном русле –  $r = -0,83$  ( $p < 0,001$ ). Следует также отметить прямые корреляционные связи содержания диеновых конъюгатов с количеством эритроцитов в их крови ( $r = 0,58$   $p < 0,05$ ), а содержание кетодиенив и сопряженных триенов обратно связано с содержанием «молодых» эритроидных клеток в крови щенков ( $r = -0,57$   $p < 0,05$ ). Итак, в результате постнатальной адаптации щенков происходит замена эритроцитов плода на постнатальные клетки, причем этот процесс связан с интенсификацией перекисного

окисления и накоплением в клетках конечных продуктов перекисидации, что сопровождается ускорением процесса «старения» молодых форм эритроцитов, в результате чего создаются предпосылки к развитию анемии.

**Ключевые слова:** эритроциты, оксидационный стресс, щенки, основания Шиффа, кетодиены, диеновые конъюгаты.

#### **The ratio of erythrocyte populations in the blood of puppies during postnatal oxidative stress**

**Anfiorova M., Broshkov M., Danchuk O.**

The article presents new scientific data on the ratio of erythrocyte populations in puppies' blood during postnatal oxidative stress. It was established that the number of erythrocytes in the blood of one-day-old puppies was  $5.64 \pm 0.12$  T/l, and half of these cells belonged to the population of "mature", 40% - "young" and 10% - "old". In day-old puppies, the content of lipid peroxidation products in erythrocyte hemolysates is quite high, which indicates the development of postnatal oxidative stress. Thus, the content of diene conjugates, ketodienes and Schiff bases is respectively  $1,406 \pm 0,023$  conv. units,  $0.676 \pm 0.004$  conv. units and  $0.135 \pm 0.003$  conv. units. From one to five days age of puppies the number

of erythrocytes in the blood decrease by 1.5 times ( $p < 0.001$ ), mainly due to the decrease in the number of "mature" cells (by 1.6 times;  $p < 0.001$ ). The intensity of peroxide oxidation in the body of puppies even a month after birth is relatively high, as indicated by the content of Schiff bases in the erythrocytes of the blood of these animals -  $0.185 \pm 0.002$  conv. units. The inverse correlations of the content of Schiff bases in erythrocyte hemolysate with their number in the bloodstream were found to be  $r = -0.83$  ( $p < 0.001$ ). It should also be noted the direct correlation of the content of diene conjugates in the blood of puppies with the number of erythrocytes in their blood ( $r = 0,58$   $p < 0,05$ ), but the content of ketodienes and conjugated trienes is inversely related to the content of "young" erythroid cells in the puppies' blood ( $r = -0.57$   $p < 0.05$ ). Consequently, post-natal adaptation of puppies results in the replacement of fetal erythrocytes by postnatal cells, and this process is associated with the intensification of peroxide oxidation and accumulation of the end products of peroxidation in the cells. This process is accompanied by an acceleration of the process of "aging" of young forms of erythrocytes, as a result of which prerequisites for the development of anemia are created.

**Key words:** erythrocytes, oxidative stress, puppies, Schiff bases, ketodienes, diene conjugates.



Copyright: © Anfiorova M., Broshkov M., Danchuk O. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

