

АКУШЕРСТВО, ГІНЕКОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 619:618.42:636.7

РУБЛЕНКО М.В., д-р вет. наук, академік НААН України
АНДРІЄЦЬ В.Г., **ЄРОШЕНКО О.В.**, **ВЛАСЕНКО С.А.**, кандати вет. наук
Білоцерківський національний аграрний університет

СТАН СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ТА МАКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО ГЕМОСТАЗУ ЗА ПІОМЕТРИ У СОБАК

У статті представлено дані щодо стану різних ланок гемостазу за піометри у собак. Встановлено, що її формування супроводжується дисемінованим внутрішньосудинним мікрозгортанням крові з переходом стадії гіперкоагуляції в стадію гіпокоагуляції. Доведено, що патогенетичний механізм ДВЗ-синдрому за піометри у сук зумовлений активацією судинно-тромбоцитарного гемостазу, а його лабораторними критеріями є поява в плазмі крові ПРФ, подовження ПЧ та АЧТЧ, зменшення активності t-РА і природних антикоагулянтів.

Ключові слова: система гемостазу, ДВЗ-синдром, піометра, собаки.

Постановка проблеми. Хвороби репродуктивної системи у дрібних свійських тварин складають близько 12–20 % у структурі незаразної патології, причому в останні роки частота розвитку запальних процесів у статевих органах збільшилась на 45 % [1, 2]. Серед захворювань репродуктивної системи собак одне із перших місць займає піометра – 42,9 % [3]. Встановлено [4], що піометра носить виражений сезонний характер: восени (вересень, жовтень, листопад) вона становить 46,2%, навесні (березень, квітень, травень) – 37,5%, на інші місяці року припадає 18,1%, що корелює з динамікою статевих циклів. Захворювання характеризується накопиченням гнійного ексудату в порожнині матки, розвитком ендотоксикозу та, як наслідок, порушенням функції органів та систем організму. Однією з її основних причин є зміна гормонального статусу та інфікування матки висхідним шляхом у період еструсу, що призводить до запуску медіаторних систем запалення, зокрема цитокінів, підвищеного синтезу гепатоцитами білків гострої фази, порушення функції систем гемостазу, фібринолізу і протеолізу. Однак патогенетичним критеріям розвитку піометри у собак, визначенню їх пріоритетності приділяється недостатньо уваги, що зумовлює застосування переважно оперативного видалення матки.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. В ряді досліджень [4–6] встановлені зміни морфологічних та деяких біохімічних показників крові, а останнім часом і системи цитокінів [2]. Також доведено [7], що за розвитку піометри та оперативного її лікування в собак розвивається дисеміноване внутрішньосудинне мікрозгортання крові (ДВЗ-синдром), яке в свою чергу призводить до системної дезорганізації. Це спонукає до подальшого вивчення діагностично-прогностичного та патогенетичного значення систем гемостазу, фібринолізу та протеолізу за піометри.

Розвиток інфекційно-запального процесу в організмі супроводжується адаптивно-компенсаторними реакціями з боку різних систем організму. І хоча такі реакції оцінюються як захисно-приспосувальні, проте їх перебіг нерідко супроводжується порушеннями низки систем організму, оскільки продукція медіаторів запалення та основних його регуляторів, білків гістогормональної природи – цитокінів, частіше за все виявляється неконтрольованою [8]. Особливо це стосується системи гемостазу, фактори і продукти активації якої пов'язані із розвитком запальної реакції.

Мета дослідження – визначити стан різних ланок системи гемостазу за піометри в собак.

Матеріали та методи дослідження. У собаках різних пород та віку (n=12), які надходили у хірургічну клініку Білоцерківського НАУ, на основі клінічних даних та результатів ультразвукового дослідження встановили піометру. У багатій (БТП) та бідній (БіТП) тромбоцитами плазми крові клінічно здорових (n=25) та хворих собак визначали вміст фібриногена, його метаболітів – розчинного фібрину та продуктів розщеплення фібрину/фібриногену (ПРФ), активність фібринстабілізуючого фактору (ФХІІІ), протромбіновий час (ПЧ) та активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ) згідно із рекомендаціями [9]. Фібринолітичну активність плазми крові

досліджували за [10] з одночасним визначенням сумарної активності (СФА), плазмінової (ПА) та активності тканинного активатора плазіногена (t-РА), а природних антикоагулянтів, антитромбіну-III (АТ-III) та протеїну С (Пр. С) – уніфікованими методами.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що за розвитку піометри в сук у тромбоцитарній та безтромбоцитарній плазмі крові спостерігається збільшення вмісту позитивного гострофазного та основного білка згортання – фібриногена в 1,4 ($p<0,01$) та 1,8 ($p<0,001$) рази за норми $3,7\pm 0,15$ та $2,55\pm 0,18$ г/л відповідно, що з одного боку є відображенням розвитку реакції гострої фази, а з іншого – гіперкоагуляційного синдрому. Це є характерним для розвитку гнійного запалення із супутньою ендотоксинемією [11].

Таблиця 1 – Стан системи гемостазу та фібринолізу в БТП та БіТП за піометри у собак

Показник	Плазма	Клінічно здорові, n=25	Піометра, n=12
Fg, г/л	БТП	$3,71\pm 0,15\bullet\bullet\bullet$	$5,26\pm 0,46^{**}$
	БіТП	$2,55\pm 0,18$	$4,74\pm 0,32^{***}$
РФ, мг/мл	БТП	$7,18\pm 1,4\bullet\bullet$	$19,7\pm 1,18^{***}\bullet\bullet$
	БіТП	$0,02\pm 0,01$	$9,8\pm 3,16^{***}$
ПРФ, мкг/мл	БТП	0	$10,8\pm 2,64^{***}\bullet$
	БіТП	0	$3,3\pm 0,99^{**}$
ФХІІІ, %	БТП	$106,3\pm 1,6\bullet\bullet$	$61,9\pm 9,64^{***}$
	БіТП	$100,0\pm 1,2$	$79,3\pm 6,2^{**}$
ПЧ, с	БТП	$15,0\pm 0,23\bullet\bullet\bullet$	$23,8\pm 1,83^{***}$
	БіТП	$13,4\pm 0,29$	$21,4\pm 2,19^{***}$
АЧТЧ, с	БТП	$17,3\pm 0,38\bullet\bullet$	$29,0\pm 2,08^{***}$
	БіТП	$18,8\pm 0,38$	$24,1\pm 1,58^{**}$
СФА, мм ²	БТП	$612,5\pm 22,5\bullet$	$474,5\pm 33,1^{**}$
	БіТП	$675,3\pm 19,5$	$483,4\pm 26,9^{***}$
ПА, мм ²	БТП	$208,8\pm 15,1$	$184,1\pm 20,1\bullet$
	БіТП	$234,3\pm 12,3$	$307,2\pm 40,6$
t-РА, мм ²	БТП	$403,8\pm 16,8$	$290,4\pm 40,8\bullet$
	БіТП	$440,9\pm 14,4$	$176,2\pm 27,7^{***}$
АТ-III, %	БТП	$90,4\pm 4,15\bullet$	$114,6\pm 7,25^{**}\bullet\bullet$
	БіТП	$102,4\pm 3,2$	$86,0\pm 4,33^{**}$
Пр. С, нВ	БТП	$1,03\pm 0,02$	$1,01\pm 0,02$
	БіТП	$1,07\pm 0,01$	$0,95\pm 0,03^{***}$

Примітки: 1) р: * – $<0,05$; ** – $<0,01$; *** – $<0,001$; решта $\rightarrow >0,05$, порівняно з аналогічним показником клінічно здорових тварин; 2) р: • – $<0,05$; •• – $<0,01$; ••• – $<0,001$; решта $\rightarrow >0,05$, порівняно між БТП та БіТП.

За розвитку піометри у собак збільшується вміст РФ як у тромбоцитарній, так і безтромбоцитарній плазмі до $19,7\pm 1,18$ мг/мл ($p<0,001$) та $9,8\pm 3,16$ мг/мл ($p<0,001$) відповідно, причому в БТП його вміст був удвічі вищим ($p<0,01$), ніж у БіТП. Наявність у циркулюючій крові РФ свідчить про тромбінемію та активацію каскадно-коагуляційного процесу. При цьому стимуляція тромбоцитів супроводжується вивільненням і зв'язуванням на поверхні клітин фібронектину та фібриногена, які посилюють відкладання на серозних оболонках фібрину.

Кінцеві продукти метаболізму фібриногена – продукти розщеплення фібрину/фібриногена (ПРФ) володіють антикоагулянтними і антиагрегантними властивостями. Їх наявність за піометри становить $3,3\pm 0,99$ мкг/мл у БіТП та $10,8\pm 2,64$ мкг/мл у БТП, що на фоні помірної кількості РФ є свідченням розвитку синдрому дисемінованого внутрішньосудинного мікрозгортання крові (ДВЗ-синдром) [12].

Водночас за розвитку піометри спостерігається зниження активності ФХІІІ. При цьому у БТП її рівень значно нижчий – $61,9\pm 9,64\%$, ($p<0,001$). Синтез ФХІІІ відбувається у печінці, а тому його низька активність зумовлена ендотоксикозом. Повноцінне фібриноутворення істотно залежить від ФХІІІ (фібринстабілізуювальний фактор), який забезпечує ковалентне зв'язування ланцюгів мономерного фібрину та переведення його у протеолітично стійку форму [13]. Дефіцит активності ФХІІІ є свідченням дисбалансу в системі гемостазу та неповноцінності первинних біологічних бар'єрів, що за піометри сприяє посиленню ендотоксикозу та дисемінації мікробних факторів із первинного вогнища запалення.

Протромбіновий час (ПЧ), як основний тест загального коагулюючого потенціалу системи гемостазу, виявився подовженим у безтромбоцитарній та тромбоцитарній плазмі хворих собак у 1,6 рази ($p < 0,001$), що вказує на дефіцит плазмових факторів зовнішнього шляху згортання.

У свою чергу активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ) дає змогу оцінювати внутрішній шлях згортання крові. За піометри він подовжується в безтромбоцитарній в 1,3 ($p < 0,01$) та тромбоцитарній плазмі – в 1,7 рази ($p < 0,001$), що свідчить про гіперактивацію гемостазу саме через тромбоцитарний ланцюг.

Однією з головних систем, яка контролює процеси протеолітичного розщеплення фібрину в організмі, є система фібринолізу з її проферментами, ферментами та їх інгібіторами. Основним її ферментом є плазмін, який володіє високою протеолітичною тропністю до фібрину. Повноцінне функціонування фібринолітичної системи забезпечується збалансованою діяльністю активаторів та інгібіторів, а також цілим рядом регулюючих металопротеїназ [14].

Представленим дослідженням встановлено вірогідне зниження СФА безтромбоцитарної плазми у 1,4 рази ($p < 0,001$), а тромбоцитарної – в 1,3 рази ($p < 0,001$). Це, головним чином, відбувалося за рахунок зменшення активності t-РА, більш виражене в безтромбоцитарній плазмі – в 2,5 рази ($p < 0,001$), а менше в тромбоцитарній – в 1,4 рази ($p < 0,05$). До того ж активність t-РА у тромбоцитарній плазмі в 1,6 рази ($p < 0,05$) виявилася вищою, ніж у БіТП, що свідчить про наявність компенсаторних механізмів з боку тромбоцитів щодо депресії фізіологічного, через t-РА, фібринолізу. Підтвердженням цього є вірогідно менший рівень плазмінової активності в БТП. Пригнічення зовнішнього шляху фібринолізу через t-РА може відбуватися завдяки його основному інгібітору – РАІ-1, продукція і синтез якого в ендотелії та тромбоцитах посилюються під впливом прозапальних цитокінів – ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 та ФНП.

Процеси тромбоутворення в організмі постійно контролюються системою природних антикоагулянтів, до якої належать АТ-Ш, Пр.С, Пр.С, кофактор ІІ гепарину, а також α_2 -макроглобулін та α_1 -антитрипсин, хоча останній може бути також інгібітором Пр.С [15]. Встановлено, що у БіТП рівень АТ-Ш вірогідно зменшувався до нижньої границі норми – $86,0 \pm 4,33$ % ($p < 0,01$), а у БТП, навпаки, підвищувався до $114,6 \pm 7,25$ % ($p < 0,01$). В умовах гнійно-запального процесу останнє може бути зумовлене адсорбцією природних антикоагулянтів на мембранах тромбоцитів, що носить певний компенсаторний характер в умовах гіперкоагуляційного синдрому. Проте, з іншого боку, швидше за все, відбувається блокування тромбоцитами антикоагуляційного потенціалу плазми крові.

Подібною виявилася і ситуація щодо активності Пр.С. Так, у безтромбоцитарній плазмі мало місце зменшення активності цього природного антикоагулянту в 1,1 рази ($p < 0,001$) без суттєвих змін у БТП.

Таким чином, розвиток піометри в сук супроводжується гіперактивацією всіх ланок системи гемостазу, яка ускладнюється дефіцитом у першу чергу плазмових факторів згортання крові та природних антикоагулянтів у зв'язку з їх адсорбцією на мембранах тромбоцитів з депресією активності фізіологічного фібринолізу. Вперше встановлено патогенетичні критерії, раніше відомого за піометри у сук ДВЗ-синдрому, в основі яких лежать механізми коагулопатії, пов'язаної з активацією судинно-тромбоцитарного гемостазу, що необхідно враховувати, особливо за оперативного лікування хворих тварин.

Висновки. 1. Формування піометри у сук супроводжується розвитком коагулопатії у формі дисемінованого внутрішньосудинного мікрозгортання крові з переходом стадії гіперкоагуляції в стадію гіпокоагуляції.

2. Патогенетичний механізм ДВЗ-синдрому за піометри у сук зумовлений активацією судинно-тромбоцитарного гемостазу.

3. Лабораторними критеріями ДВЗ-синдрому за піометри є поява в плазмі крові ПРФ, подовження ПЧ та АЧТЧ, зменшення активності t-РА.

Перспективою подальших досліджень є встановлення динаміки показників судинно-тромбоцитарного гемостазу за піометри та її оперативного лікування, обґрунтування фармакологічної корекції системи гемостазу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белобороденко А.М. Морфофункциональное состояние репродуктивного аппарата сук, находящихся в условиях гиподинамии: сборник статей по болезням мелк. дом. животных / А.М. Белобороденко, М.А. Белобороденко, Т.А. Белобороденко // Казань. – 2006. – С. 50-51.
2. Чернигов Ю.В. Изменения цитокиновой системы крови собак в динамике оперативного лечения пиометры / Ю.В. Чернигов, С.В. Чернигова, Т.Ш. Кузнецова // М.: ООО «Агровет», Ветеринарная медицина – 2011. – № 1. – С. 61 -62.

3. Рубленко С.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних свійських тварин в умовах міської клініки / С.В. Рубленко, О.В. Єрошенко // Вісник Сумського нац. аграр. ун-ту. – Суми, 2012. – Вип. 1(30). – С. 150–154.
4. Болдарев А.А. Диагностика и органосохраняющая терапия при пиометре у сук: автореф. дис. на соискание учен. степени канд. вет. наук: спец. 16.00.07 “Ветеринарное акушерство” / А.А. Болдарев. – Воронеж, 2009. – 23 с.
5. Омелянченко М.М. Пиометра – тяжке захворювання всього організму / М.М. Омелянченко // Ветеринарна медицина України. – 2006. – № 12. – С. 27–29.
6. Дюльгер Г.П. Пиометра у собак / Г.П. Дюльгер, Ю.Г. Сибилева, Е.С. Новик // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 39–43.
7. Дубова О.А. Синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові при вагітності і пиометри у собак: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук : спец. 16.00.07 – «Ветеринарне акушерство» / О.А. Дубова. – Київ, 2003. – 22 с.
8. Паталах І.І. Система гемостазу та білки гострої фази запалення при тромбогенних патологіях / І.І. Паталах, С.О. Кудінов // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 5–12.
9. Методи визначення показників гемостазу у тварин: Методичні рекомендації / М.В. Рубленко, С.А. Власенко, А.В. Яремчук. – Біла Церква, 2007. – 16 с.
10. Astrup T. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity / T. Astrup, S. Müllertz // Arch. Biochem. Biophys. – 1952. – Vol. 40. – P. 346–351.
11. Fransson B. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases / B. Fransson, A.-S. Lagerstedt, E. Hellmen // J. Vet. Med. – 1997. – Vol. 44. – P. 417–426.
12. Черешнев В.А. Системное воспаление как иммунопатобиологический феномен / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, № 2. – С. 17–22.
13. Ichinose A. The physiology and biochemistry of factor XIII / A. Ichinose // Haemostasis and Thrombosis; ed. by A. L. Bloom, C. D. Fosbes, D. P. Thomas, E. G. D. Tuddenham. – New York: Churchill Livingstone, 1994. – P. 531–546.
14. Добровольский А.Б. Система фибринолиза: регуляция активности и физиологические функции ее основных компонентов / А.Б. Добровольский, Е.В. Титаева // Биохимия. – 2002. – № 67. – С. 116–127.
15. Desai U.R. New antithrombin-based anticoagulants / U.R. Desai // Med. Res. Reviews. – 2004. – Vol. 24. – № 5. – P. 151–181.

REFERENCES

1. Beloborodenko A.M. Morfofunkcional'noe sostojanie reproduktivnogo apparata suk, nahodjashhihsja v uslovijah gipodinamii: sbornik statej po boleznyam melk. dom. zhivotnyh / A.M. Beloborodenko, M.A. Beloborodenko, T.A. Beloborodenko // Kazan'. – 2006. – S. 50–51.
2. Chernigov Ju.V. Izmenenija citokinovoj sistemy krovi sobak v dinamike operativnogo lechenija piometry / Ju.V. Chernigov, S.V. Chernigova, T.Sh. Kuznecova // M.: OOO «Agrovet», Veterinarnaja medicina – 2011 – № 1. – S. 61–62.
3. Rublenko S.V. Monitoring veterinarnoi dopomogi i struktura hirurgichnoi patologii sered dribnih domashnih tvarin v umovah mis'koj kliniki / S.V. Rublenko, O.V. Eroshenko // Visnik Sums'kogo nac. agrar. un-tu. – Sumi, 2012. – Vip. 1(30). – S. 150–154.
4. Boldarev A.A. Diagnostika i organosohranjajushhaja terapija pri piometre u suk: avtoref. dis. na soiskanije uchen. stepeni kand. vet. nauk: spec. 16.00.07 “Veterinarnoe akusherstvo” / A.A. Boldarev. – Voronezh, 2009. – 23 s.
5. Omel'janchenko M.M. Piometra – tjazhke zahvorjuvannja vs'ogo organizmu / M.M. Omel'janchenko // Veterinarna medicina Ukraїni. – 2006. – № 12. – S. 27–29.
6. Djul'ger G.P. Piometra u sobak / G.P. Djulger, Ju.G. Sibileva, E.S. Novik // Veterinarija. – 2008. – № 2. – S. 39–43.
7. Dubova O.A. Sindrom diseminovanogo vnutrishn'osudinnogo zgotannja krovi pri vagitnosti i piometri u sobak: avtoref. dis. na zdobuttja nauk. stupenja kand. vet. nauk : spec. 16.00.07 – «Veterinarnе akusherstvo» / O.A. Dubova. – Kiїv, 2003. – 22 s.
8. Patalah I.I. Sistema gemostazu ta bilki gostroї fazi zapalennja pri trombogennih patologijah / I.I. Patalah, S.O. Kudinov // Ukr. biohim. zhurn. – 2008. – Т. 80, № 1. – S. 5–12.
9. Metodi viznachennja pokaznikov gemostazu u tvarin: Metodichni rekomendacii / M.V. Rublenko, S.A. Vlasenko, A.V. Jaremchuk. – Bila Cerkva, 2007. – 16 s.
10. Astrup T. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity / T. Astrup, S. Müllertz // Arch. Biochem. Biophys. – 1952. – Vol. 40. – P. 346–351.
11. Fransson B. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases / B. Fransson, A.-S. Lagerstedt, E. Hellmen // J. Vet. Med. – 1997. – Vol. 44. – P. 417–426.
12. Chereshevnev V.A. Sistemnoe vospalenie kak immunopatobiologicheskij fenomen / V.A. Chereshevnev, E.Ju. Gusev // Citokiny i vospalenie. – 2002. – Т.1, № 2. – S. 17–22.
13. Ichinose A. The physiology and biochemistry of factor XIII / A. Ichinose // Haemostasis and Thrombosis ; ed. by A. L. Bloom, C. D. Fosbes, D. P. Thomas, E. G. D. Tuddenham. – New York: Churchill Livingstone, 1994. – P. 531–546.
14. Dobrovol'skij A.B. Sistema fibrinoliza: reguljacija aktivnosti i fiziologicheskie funkcii ee osnovnih komponentov / A.B. Dobrovol'skij, E.V. Titaeva // Biohimija. – 2002. – № 67. – S. 116–127.
15. Desai U.R. New antithrombin-based anticoagulants / U.R. Desai // Med. Res. Reviews. – 2004. – Vol. 24. – № 5. – P. 151–181.

Состояние сосудисто-тромбоцитарного и макроциркуляторного гемостаза при пиометре у собак

М. В. Рубленко, В. Г. Андриец, О. В. Єрошенко, С. А. Власенко

В статье представлены данные о состоянии системы гемостаза при пиометре у собак. Установлено, что ее формирование сопровождается диссеминированным внутрисосудистым микросвертыванием крови с переходом стадии гиперкоагуляции в стадию гипокоагуляции. Доказано, что патогенетический механизм ДВС-синдрома при пиометре у сук обусловлен активацией сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, а его лабораторными критериями являются появление в плазме крови ПРФ, удлинение ПВ и АЧТВ, уменьшение активности t-PA и природных антикоагулянтов.

Ключевые слова: система гемостаза, ДВС-синдром, пиометра, собаки.