

СТАН ГЕМОСТАЗУ ТА РІВЕНЬ ГЕНЕРАЦІЇ ОКСИДУ AZOTY У КОРІВ ЗА ХРОНІЧНОГО МІКОТОКСИКОЗУ

Рубленко М.В.

Національна академія аграрних наук України, м. Київ

Куцан О.Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Красєвський А.Й., Кургуз М.М.

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

Наявність мікотоксинів у кормах призводить до підвищення частоти захворювань тварин, що знижує ефективність скотарства. Мікотоксини можуть бути одним з етіологічних факторів виникнення акушерських та гінекологічних патологій і призводити до зниження репродуктивної функції у корів [1]. Проте механізми їх розвитку вивчені недостатньо, що гальмує розроблення ефективних способів лікування та профілактики хвороб. За розвитку патологічного процесу в організмі відбуваються порушення гемостазу.

Гемостаз – постійно функціонуюча, багатокomпонентна система, в якій підтримуються в динамічній рівновазі процеси активації та інгібіції, як у клітинній, так і в ферментній ланках [2]. Важливим компонентом гемостазу тварин є фібриноген. Надмірне накопичення його метаболітів спричиняє глибокі порушення у системі мікроциркуляції [3, 4]. Одним з метаболітів фібриногену є розчинний фібрин. Як відомо, основним шляхом катаболізму фібриногену є: протеоліз тромбіном, при цьому відокремлюються фібринопептиди А і В і утворюється розчинний фібрин-мономер, який перетворюється у фібрин-полімер, останній стабілізується фактором XIII [5]. Активованний частковий тромбопластиновий час є тестом на “внутрішній” шлях згортання. Одним з факторів, який призводить до його подовження є полімеризація фібрину [6].

Фібринолітична система організму функціонально спрямована на природний лізис фібрину, що утворюється в процесі перманентного локального гомеостазу на різних етапах формування фібринового остова тромбу: від фібрин-мономера розчинних комплексів мономерного фібрину і до нерозчинного фібрину. Однак роль фібринолізу необмежена лише виділенням фібрину з судинного русла. Істотна роль цієї системи і в інших біологічних феноменах, таких як репарація тканин, злаякісна трансформація, макрофагальні реакції, овуляція та імплантація ембріона [7].

Оксид азоту (NO) має важливе значення для функціонування ендотелію судин, факторів імунологічного захисту та нейрогуморальної регуляції [8]. При тривалому розвитку запальних процесів відбувається ушкодження ендотелію судин, яке призводить до зниження синтезу NO в організмі [9]. Поряд з цим одним із важливих патогенетичних механізмів більшості патологічних ефектів, є активація пероксидного окиснення ліпідів. [10].

Таким чином, гемостаз, рівень продукції оксиду азоту і малонового діальдегіду мають важливе значення у розвитку патологічних процесів в організмі тварин. Проте їх патогенетичні взаємозв'язки у розвитку гінекологічної патології на тлі мікотоксикозів не розглядалася.

Постановка завдання. Метою досліджень було вивчити показники гемостазу та рівень продуктів ПОЛ і оксиду азоту у крові залежно від стану статевих органів на тлі хронічного мікотоксикозу.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження проводились навесні, коли корми після тривалого зберігання найбільше забруднені мікроскопічними грибами та їх токсинами. Для підтвердження цієї гіпотези було проведено мікологічні дослідження зразків кормів у двох господарствах. В одному з яких за органолептичною оцінкою корми були високої якості, в іншому – низької. Дослідження кормів (лабораторія відділу токсикології, безпеки та якості с.-г. продукції ННЦ «ІЕКВМ») проводили на вміст спор мікроскопічних грибів та їх токсинів. Мікотоксини визначали за методикою одночасного їх визначення (афлатоксину В₁, зеараленон, патулін, стеригматоцистин) в кормах за тонкошаровою рідинною хроматографією [11].

З метою вивчення стану гемостазу і рівня ПОЛ та оксиду азоту в неплідних корів обох господарств з яремної вени відбирали кров, яку стабілізували 3,8 % натрієм лимоннокислим у співвідношенні 9:1. Зважаючи на те, що у другому господарстві у значній кількості корів реєстрували субклінічні метрити, під час відбору крові сформували дві групи тварин. До першої групи віднесли корів із субклінічним перебігом метриту, другої – тварин без гінекологічної патології. Гемостазіологічні дослідження включали визначення вмісту фібриногену за методом В.О. Беліцера зі співавт. [12], розчинного фібрину (РФ) – за методом Т.В. Варецької зі співавт. [13], фібринстабілізуючого фактора – уніфікованим методом. Рівень α_1 -ІП та α_2 -М визначали за методом К.М. Веремеєнка зі співавт. [14], сумарну фібринолітичну активність (СФА), плазмінову активність (ПА) та активність тканинного активатора плазміногену (t-РА) – за методом фібринових пластинок [15], рівень оксиду азоту – за методикою Гріна у модифікації П.П. Голікова [16], вміст МДА – за методикою Л.И. Андреевой зі співавт. [17].

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами мікологічного дослідження кормів у СТОВ «Вікторія» мали низьку і середню забрудненість мікроскопічними грибами до 40 тис. спор/г корму, а рівень мікотоксинів не перевищував МДР. У СЗАТ «Маяк» корми мали високу забрудненість спорами мікроскопічних грибів (більше 100 тис. спор/г корму) у комбікормі 171250 спор/г, крім того відмічали підвищений вміст мікотоксинів: у силосі стеригматоцистин – 0,8 мг/кг (МДР – 0,5 мг/кг), у сінажі зеараленон – 0,4 мг/кг (МДР – 0,05 мг/кг).

Стан гемостазу в корів за хронічного мікотоксикозу характеризувався порушенням метаболізму фібриногену. Це явище проявлялося тенденцією до підвищення його вмісту у тварин без гінекологічної патології та підвищенням рівня РФ у корів обох груп за хронічного мікотоксикозу, зниженням активності ФХІІІ при субклінічному метриті. Подовження активованого часткового тромбопластинового часу, особливо у тварин з субклінічним метритом свідчило про формування коагулопатії споживання.

Інгібіторний потенціал плазми крові в корів з хронічним мікотоксикозом без гінекологічної патології мав тенденцію до підвищення за рахунок зростання рівня α_1 -ІП і α_2 -М.

У корів за хронічного мікотоксикозу відбувалося істотне підвищення фібринолітичної активності плазми крові. Зокрема в обох групах тварин із мікотоксикозом відмічали тенденцію до збільшення фібринолітичної активності, що відбувалося внаслідок вірогідного підвищення плазмінової активності у 3,4 рази в корів зі субклінічним метритом і у 4,7 рази у тварин без гінекологічної патології. Проте збільшення активності тканинного активатора плазміногену в обох групах мало лише характер тенденції. Тобто за умов мікотоксикозу в корів посилюється фібриноліз через його активації по внутрішньому шляху за рахунок тригерної (пускової) дії калікрин-кінінової системи.

Таблиця 1 – Стан гемостазу та рівні ПОЛ і оксиду азоту в крові корів за хронічного мікотоксикозу та клінічно здорових тварин

Показники	Хронічний мікотоксикоз		Клінічно здорові тварини n=11
	субклінічний метрит, n=5	гінекологічно здорові тварини, n=4	
Fg, г/л	4,7±0,4	5,1±0,5	4,6±0,2
РФ, мг%	39,4±5,2 [^]	23,6±2,0	0
ФХІІІ, %	45,5±7,4 ^{**}	92,0±21,1	72,5±1,8
АЧТЧ тест, %	85,3±10,02 ^{***}	69,9±13,95	42,0±2,7
α ₁ -ІП, мкмоль/л	165,2±5,6	173,3±6,7	167,5±5,0
α ₂ -М, г/л	3,74±0,5	3,3±0,4	3,0±0,1
СФА, мм ²	105,0±10,6	104,3±6,3	62,8±18,0
РА, мм ²	26,5±1,9 ^{***^}	36,1±3,4 ^{***}	7,7±3,3
t-РА, мм ²	78,5±10,8	68,2±3,5	46,4±14,4
NOx, мкмоль/л	12,24±1,3 ^{***^}	27,9±5,4	25,2±2,1
МДА, мкмоль/л	4,02±0,9	3,45±0,37 [*]	2,0±0,5

Примітки: ** – p<0,01; *** – p<0,001 – відносно клінічно здорових тварин, ^ – p<0,05 – відносно тварин без гінекологічної патології.

Рівень оксиду азоту у корів за хронічного мікотоксикозу без гінекологічної патології мав тенденцію до підвищення, а малоногий діальдегід вірогідно підвищувався порівняно зі здоровими тваринами. Водночас у корів за субклінічного метриту відмічали вірогідне зниження продукції оксиду азоту та тенденцію до підвищення вмісту малонового діальдегіду. Оскільки оксид азоту продукується судинним ендотелієм, то в цьому разі мова може йти про його дисфункцію, а відповідно про порушення мікроциркуляції.

Отже, метаболізм фібриногену в корів при хронічному мікотоксикозі мав певні особливості залежно від стану статевих органів, тобто наявності або відсутності гінекологічної патології. Зокрема, у корів з субклінічним метритом рівень розчинного фібрину був вірогідно вищий, ніж у тварин без гінекологічної патології. Активність фібринази також мала тенденцію до зниження. У хворих корів спостерігалася тенденція до зниження рівня α₁-ІП, що компенсувалося підвищенням вмісту α₂-М. Сумарна фібринолітична активність у обох групах тварин вірогідно не відрізнялася, проте плазмінова активність знижувалася на 36,2 % у хворих тварин з одночасною тенденцією до зростання активності t-РА. Рівень оксиду азоту в крові корів з субклінічним метритом був у 3 рази менший відносно тварин без гінекологічної патології, а вміст малонового діальдегіду мав тенденцію до підвищення.

Таким чином, у корів за хронічного мікотоксикозу без гінекологічної патології та зі субклінічним метритом напружено функціонують коагуляційна, інгібіторна і фібринолітична системи гемостазу. Тенденція до підвищення рівня оксиду азоту і вірогідне зростання – малонового діальдегіду свідчить про активацію судиннотромбоцитарної та пригнічення антиоксидантної систем організму корів без гінекологічної патології. У тварин за субклінічного метриту відбувалося пригнічення судиннотромбоцитарної та антиоксидантної систем організму, на що вказує вірогідне зниження рівня азоту та тенденція до підвищення малонового альдегіду.

Висновки. Отже, у тварин за субклінічного метриту на тлі хронічного мікотоксикозу відбувається активація коагуляційної та пригнічення фібринолітичної ланок гемостазу, про що свідчить зростання рівня РФ у 1,7 та зниження плазмінової активності у 1,4 рази відносно тварин без гінекологічної патології. Крім того, у хворих тварин спостерігається виснаження судиннотромбоцитарної системи та порушення ПОЛ внаслідок зниження рівня оксиду азоту більше ніж у 2 рази відносно клінічно здорових корів і порівняно з тваринами за хронічного мікотоксикозу без гінекологічної патології.

Перспектива подальших досліджень полягає у вивченні окремих ланок патогенезу субклінічного метриту за хронічного мікотоксикозу та розробленні лікувально-профілактичних заходів.

Список літератури

- Джеф, Смит Микотоксини и их влияние на молочный крупный рогатый скот / Джеф Смит, Лон Уитлоу // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 8. – С. 49-53. 2. Черный, В.И., Нарушения в системе гемостаза при критических состояниях. / В.И. Черный, Т.П. Кабанько, И.В. Кузнецова – Киев: Здоровье, 2000 – С. 23-30. 3. Pinto, S. Increased thrombin generation in normal pregnancy / S. Pinto, R. Abbate, C. Rostagno et al. // Acta Eur. Fert. – 1988. – Vol.19, № 5. – P. 263-267. 4. Голота, В.Я. Диагностика претромботического stanu за допомогою сучасних коагулологічних тестів в акушерській практиці / В.Я. Голота, М.Ш. Гамісонія, Т. М. Платонова, Є.М. Макогоненко. // Лаб. діагностика. – 1998. – №3. – С. 15-18. 5. Потапов, О.О. Скрипінгові тести у динамічному дослідженні системи гемостазу при тяжкій черепно-мозковій травмі. / О.О. Потапов, О.П. Кмита // Вісник СумДУ. Серія Медицина, №1 – 2007. – С. 90-93. 6. Данчук, В.В. Пероксидне окислення у сільськогосподарських тварин та птиці. / В.В. Данчук // Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 192 с. 7. Андреев Г.В. Фибринолиз / Г.В. Андреев – М.: Изд. – во Моск. ун-та, 1979 – 352 с. 8. Шаганенко, В.С., Оксид азоту і агрегація тромбоцитів у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок / В.С.Шаганенко, А.В.Яремчук // Вісник Білоцерків. нац. аграр. ун-т. – Вип.4, № 76. – С. 131-134. 9. Белокуров, Ю.Н. Сепсис / Ю.Н. Белокуров, А.Б. Грамницкий, В.М. Малодкин // М.: Медицина, 1983. – 127 с. 10. Ліпка, О.П. Середні молекули у патогенезі пізнього гестозу / О.П. Ліпка // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1996. – №5-6. – С. 71-73. 11. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці і поліпшенню якості кормів // Київ, 1998. – С. 6-35. 12. Белицер, В.А. Определение содержания фибриногена в плазме крови / В.А. Белицер, Т.В. Варецкая, Ю.П. Бутилин // Лаб. дело. – 1983. – №4. – С. 38-42. 13. Варецкая, Т.В. Определение растворимого фибрина в плазме крови / Т.В. Варецкая, Л.И. Михайловская, Л.И.Свистальская // Лаб. дело. – 1992. – №7-8. – С. 10-14. 14. Веремеенко, К.Н. Протеолиз в норме и при патологии. / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200 с. 15. Astrup, T. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity / T. Astrup, S. Mullertz // Arch. Biochem. Biophys. – 1952. – Vol. 40. – P. 346-351. 16. Голиков, П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний / П.П. Голиков, – М:ИД Медпрактика – М, 2004. – 180 с. 17. Андреева, Л.И., Кожемякин Л.А., Кушкин А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – №11. – С. 41-44.

STATE OF HEMOSTASIS AND THE GENERATION OF NITRIC OXIDE LEVELS AT COWS WITH CHRONIC MYCOTOXICOSES**Rublenko M.V.***National Academy of Agrarian Science of Ukraine, Kyiv,***Kutsan O.T.***National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv,***Kraevskiy A.Y., Kurguz M.M.***Sumy National Agrarian University*

Cows with chronic mycotoxicoses and the absence of gynecological diseases, as well as in subclinical metritis defined coagulation activation, inhibitory and fibrinolytic systems of hemostasis. In addition to these animals because of the trend towards increasing levels of nitric oxide and the likely increase of malondialdehyde occurred sosudistotrombotsitarnoy activation and inhibition of antioxidant systems. At the same time in cows with subclinical metritis suppressed sosudistotrombotsitarnaya and antioxidant systems of the body due to declining levels of nitric oxide and trends to increase malondialdehyde.

УДК 619:617.25:616-071:612.172.6**ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ У СОБАК РІЗНОГО ВІКУ
ЗА СОМАТИЧНОГО БОЛЮ ТА РІЗНИХ СХЕМ АНЕСТЕЗІЇ****Рубленко М.В., Пирин Б.В.***Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква*

У дрібних домашніх тварин, порівняно з іншими видами, частота розвитку різноманітної хірургічної патології істотно більша. Головним чином, вона зумовлена травматизмом, який складає близько 42-55 % хірургічно хворих собак [4-8], що в свою чергу вимагає оперативного лікування. Будь-яке оперативне втручання супроводжується крововтратою (зовнішньою чи внутрішньою), крововиливами в тканини, порушеннями мікроциркуляції з формуванням агрегатів формених елементів крові та депонуванням її в судинах. Ці порушення призводять до змін у системі крові та гемостазу і, зокрема, морфологічної картини крові.

Загальний аналіз крові є основним, швидким та найбільш поширеним тестом у ветеринарній хірургії. Він входить до обов'язкового мінімуму лабораторного обстеження, особливо коли мова йде про оперативні втручання з будь-якого приводу [1]. При цьому, в залежності від виду травмованих тканин розвивається соматична та вісцеральна больова реакція, зокрема, соматична больова реакція організму реалізується через систему глибоких і поверхневих рецепторів у шкірі, підшкірній клітковині, м'язах, сухожилках, суглобах, окісті, кістковій тканині та фасціях [2]. Фактори, які пошкоджують ці тканини викликають відчуття соматичного болю. Останній зумовлює відповідний сенсорний та емоційний стан, а внаслідок больової аферентної імпульсації [3], надмірний прояв якої, нерідко призводить до шоку та загибелі тварини.

У ветеринарній анестезіології більшість існуючих анестетиків та схем анестезії мають низку недоліків. У зв'язку з цим запропоновано нові знеболювальні засоби, які не підлягають спеціальному контролю. Однак їх подальше використання у ветеринарній практиці потребує більш глибокого клініко-експериментального обґрунтування із урахуванням типу больової реакції, видових і вікових особливостей організму тварин та реакції з боку системи крові.

Мета роботи – вивчити динаміку гематологічних показників у собак різних вікових груп за різних схем анестезіологічного забезпечення при хірургічному лікуванні соматичної патології.

Матеріал та методи досліджень. Серед хірургічних маніпуляцій, пов'язаних із лікуванням соматичної патології виконували остеосинтез, видалення пухлин та хірургічне лікування ран при політравмах у собак, які поступали у хірургічну клініку БНАУ. Були сформовані групи тварин за віком: 2 місячні; 4-6 місячні; 5-7 річні по 6 голів у дослідних та контрольних групах та 1-3 річні по 9 голів. У контрольних групах для знеболювання застосовували ксиланін (2 % Ксилу) у дозі 2-4 мг/кг в/м, кетамін 5 % – 50-10 мг/кг в/м або в/в. У дослідних групах собак 2 та 4-6-місячного віку застосовували ацепромазин у дозі 0,5-1,0 мг/кг в/м, кетамін 5 % – 50-10 мг/кг в/м та бутарфанолу тартрат (0,2 % Стадол) у дозі 0,2-0,4 мг/кг в/м. Останній відноситься до опіодних анальгетиків і є синтетичним антагоніст-агоністом опіатних рецепторів [10], а через невеликий об'єм дози та можливість внутрішньом'язового введення був обраний для собак молодших вікових груп.

У дослідних групах собак 1-3- та 5-7-річного віку застосовували ацепромазин у дозі 0,5-1,0 мг/кг в/м, кетамін 5 % – у дозі 5-10 мг/кг в/м або в/в та пропופол (1 % Рекофол) у дозі 4-7 мг/кг в/в, повільно протягом 1-2 хв. [9]. Останній є снодійним і заспокійливим засобом з вираженими анестезувальними властивостями [11]. У зв'язку з обмеженою розчинністю у воді, форма лікарського препарату являє собою 10 % соєву емульсію [12, 13]. Відбір проб крові для аналізу проводили до початку оперативного втручання, під час основної хірургічної маніпуляції, на першу і на третю добу після операції. Кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів визначили загальноприйнятими методами, а вміст у крові гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведено аналіз стану гематологічних показників периферичної крові залежно від віку, методу анестезіологічного забезпечення та виду больової чутливості (табл. 1-5).

Таблиця 1 – Гематологічні показники у 2-х місячних собак за соматичного болю

Показник	До операції	Під час	I-ша доба	III-тя доба
Еритроцити, Т/л	<u>3,5±0,21</u> 4,05±0,65	<u>4,28±0,09</u> 3,81±0,28	<u>3,44±0,43</u> 4±0,31	<u>3,75±0,32</u> 4,1±0,35
Лейкоцити, Г/л	<u>21,25±3,01</u> 21,33±3,84	<u>13,5±2,13</u> 15±3,75	<u>16,12±2,55</u> 21,11±3,88	<u>15,75±2,8</u> 20,75±4
Тромбоцити, Г/л	<u>500±24,5</u> 475±14,43	<u>375±14,24</u> 406,25±25,77	<u>480±17,06</u> 475,5±15,18	<u>550±15,03</u> 587,5±17,5
Гемоглобін, г/л	<u>92,28±3,13</u> 94,48±4,7	<u>88,63±3,02</u> 84,98±3,61	<u>91,9±4,61</u> 92,63±5,14	<u>97,28±4,21</u> 103,24±5,95

Примітки: 1 – чисельник – контроль, знаменник – дослід; 2 – р: *-<0,05; **-<0,01; ***-<0,001; решта ->0,05.