

СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ У СОБАК ПРИ ОПЕРАЦИЯХ НА КИШЕЧНИКЕ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ АЦЕЛИЗИНОМ

**М.В. Рубленко, доктор ветеринарных наук, профессор,
академик НААН**

тел. +38(04563) 5-78-04, rublenko@meta.ua

С.В. Рубленко, доктор ветеринарных наук, доцент

тел. +38(04563) 5-78-04, rubs@ukr.net

В.Г. Андриец, кандидат ветеринарных наук, ассистент

тел. +38(04563) 5-78-08, andriets83@ukr.net

Белоцерковский национальный аграрный университет, Украина

Ключевые слова: кишечная непроходимость, собаки, агрегация, тромбоциты, сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, ацелизин.

Исследовано сосудисто-тромбоцитарный гемостаз у собак при хирургическом лечении кишечной непроходимости. Установлено, что данная патология сопровождается усилением адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов, которая существенно усиливается в послеоперационный период. Доказано, что применение ацелизина способствует умеренному ослаблению адгезивных и агрегационных свойств тромбоцитов, что снижает адгезивность брюшины.

Введение. Среди различных заболеваний у собак значительную их часть составляют хирургические болезни. Вместе с тем, среди внутренней патологии довольно часто диагностируются заболевания органов системы пищеварения – 63,9% [1]. Согласно других данных [2], у домашних животных довольно распространена кишечная непроходимость, которая может составлять 35–40%. Наиболее эффективным методом ее лечения является хирургический, который сопровождается дополнительной травмой, выраженной фибриноз-

ной экссудацией, что предопределяет развитие спаечной болезни брюшины.

Одной из медиаторных систем организма, которая принимает непосредственное участие в развитии воспалительных процессов, является система гемостаза [3]. Раньше уже рассматривалась патогенетическая роль плазменно-коагуляционного звена гемостаза при различной хирургической патологии у животных разных видов, однако сосудисто-тромбоцитарный компонент остается малоизученным.

Воспаление, наряду с флогогенными эффектами, связано и с процессами регенерации. Последние нередко, восстанавливая морфологическую целостность тканей, обуславливают нарушение их функции. Ярким примером этого является формирование перитонеальных спаек после оперативных вмешательств на органах брюшной полости.

Согласно данным ряда исследователей [4, 5], развитие послеоперационного спаечного процесса предопределяется благодаря отложению фибрина в участках травмированной брюшины на фоне снижения фибринолитической активности. Вместе с тем, на наш взгляд, такая трактовка не полностью отражает патогенез данной патологии, поскольку упомянутым процессам предшествует развитие воспалительной реакции, первичным механизмом развития которой является активация/агрегация тромбоцитов в участках повреждения. Следовательно, степень развития спаечного процесса будет зависеть от уровня адгезивности и агрегации тромбоцитов.

Цель — изучить динамику адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов после хирургического лечения кишечной непроходимости у собак и ее коррекцию ацелизином.

Материалы и методы исследования. В исследованиях использовались собаки возрастом 1,5–7 лет разных пород, которые поступали в хирургическую клинику Белоцерковского НАУ с диагнозом кишечной непроходимости различной этиологии. После оперативного вмешательства животных разделили на опытную (n=5) и контрольную (n=5) группы. Первым на протяжении 5-ти суток после-

операционного периода внутримышечно вводили водорастворимую инъекционную форму ацетилсалициловой кислоты – «Ацелизин» в дозе 7 мг/кг раз в сутки и бицилин-3 согласно инструкции. Собакам контрольной группы проводили только курс антибиотикотерапии. Дополнительно была сформирована группа клинически здоровых собак (n=21).

Для исследования отбирали венозную кровь до операции, на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после операции, стабилизируя ее 3,8%-ным раствором натрия лимоннокислого в соотношении 9:1. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали путем центрифугирования крови при 1000 об/мин в течении 8-10 мин, бедную тромбоцитами плазму – при 3000 об/мин в течение 15 мин. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз исследовали методом количественного измерения агрегации тромбоцитов с такими индукторами агрегации как АДФ, коллаген, ристоцетин (наборы фирмы "Ренам", г. Москва). Агрегацию оценивали по вычислению показателей суммарного индекса агрегации тромбоцитов (СИАТ), скорости агрегации тромбоцитов (САТ) и индекса дезагрегации (ИДТ) за формулами согласно инструкции к наборам реагентов.

Результаты и их обсуждение. Исследованием установлено (табл. 1), что у собак с кишечной непроходимостью в 1,3 раза ($p < 0,001$) усиливалась АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов (до $88,6 \pm 2,16\%$). Однако это компенсировалось увеличением антиагрегационных свойств тромбоцитов, что выражалось в снижении скорости агрегации (САТ) в 2,5 раза ($p < 0,001$) и повышении индекса дезагрегации тромбоцитов (ИДТ) – $4,1 \pm 1,4\%$ ($p > 0,05$).

На 1-е сутки после оперативного лечения кишечной непроходимости в опытных и контрольных животных отмечалось повышение САТ в 1,7 ($p < 0,001$) и 1,4 раза ($p < 0,01$), соответственно, что в целом указывает на существенное усиление адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов.

В пик развития воспаления, на 3-и сутки после операции, в контрольных собак сохранялось устойчивое проагрегантное состояние

тромбоцитов. В это время в опытных собак в 1,8 раза ($p < 0,01$) уменьшалась скорость агрегации и в три раза ($p < 0,01$) повышался индекс дезагрегации. При этом нормализовался СИАТ – $70,1 \pm 1,51\%$, тогда как в контрольных это отмечалось лишь с 7-ых суток – $71,2 \pm 1,19\%$.

Таблица 1.

Динамика показателей АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у собак после операций на кишечнике

Сутки	Группы	АДФ		
		СИАТ, %	САТ, ед/мин	ИДТ, %
До операции	(n=15)	$88,6 \pm 2,16$	$0,12 \pm 0,02$	$4,1 \pm 1,4$
1-я	I (n=5)	$86,7 \pm 1,93$	$0,2 \pm 0,01$	0
	II (n=5)	$83,7 \pm 1,46$	$0,17 \pm 0,01$	0
3-я	I (n=5)	$70,1 \pm 1,51^{***}$	$0,12 \pm 0,01^{**}$	$12,4 \pm 1,17^{**}$
	II (n=5)	$86,8 \pm 1,86$	$0,21 \pm 0,02$	$4,1 \pm 1,47$
7-я	I (n=5)	$69,3 \pm 0,37$	$0,17 \pm 0,01$	$10,5 \pm 1,61$
	II (n=5)	$71,2 \pm 1,19$	$0,19 \pm 0,02$	$7,6 \pm 2,18$
14-я	I (n=5)	$71,2 \pm 1,73^*$	$0,15 \pm 0,01$	$3,4 \pm 1,57$
	II (n=5)	$64,8 \pm 1,28$	$0,18 \pm 0,01$	$1,8 \pm 0,33$
Здоровые	n=21	$69,7 \pm 4,37$	$0,3 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,74$

Примечания: 1. Значение p : * – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; *** – $< 0,001$; остальное $\rightarrow > 0,05$ по сравнению с контрольной группой; 2. I – опытная, II – контрольная группа.

При индуцировании агрегации тромбоцитов коллагеном у собак с кишечной непроходимостью было установлено повышение в 1,2 раза ($p < 0,01$) СИАТ – $85,7 \pm 2,0\%$ (табл. 2). Однако, на первые сутки после операции она, в отличие от стимулированной АДФ, существенно повышалась как в опытных (в 1,1 раза, $p < 0,05$), так и в контрольных (в 1,2 раза, $p < 0,01$) животных. Параллельно с этим снижа-

лась скорость агрегации, которая была в 1,5 и 1,2 раза ($p < 0,05$) ниже сравнительно с показателем клинически здоровых собак.

На 3-и сутки послеоперационного периода в контрольных собак СИАТ снижался в 1,1 раза ($p < 0,05$) сравнительно с первыми сутками. Однако, в опытных животных суммарный индекс агрегации снизился в до $59,8 \pm 1,71\%$ ($p < 0,001$) и был в 1,5 раза ($p < 0,001$) ниже такого у контрольных. Наряду с этим существенно снижалась САТ – $0,02 \pm 0,004$ ед/мин ($p < 0,05$).

Таблица 2.

Динамика коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у собак после операций на кишечнике

Сутки	Группы	Коллаген		
		СИАТ, %	САТ, ед/мин	ИДТ, %
До операции	(n=15)	85,7±2,0	0,06±0,014	0
1-я	I (n=5)	<u>94,3±3,12</u>	<u>0,041±0,006</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	98,8±3,75	0,048±0,001	0
3-я	I (n=5)	<u>59,8±1,71***</u>	<u>0,02±0,004**</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	88,7±2,07	0,07±0,013	0
7-я	I (n=5)	<u>68,6±1,14**</u>	<u>0,02±0,001***</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	76,1±1,82	0,05±0,001	0
14-е	I (n=5)	<u>73,9±1,54</u>	<u>0,03±0,004</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	69,6±1,63	0,04±0,011	0
Здоровые	n=21	74,1±3,05	0,06±0,005	0

Примечания: 1. Значение p : * – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; *** – $< 0,001$; остальное – $> 0,05$ по сравнению с контрольной группой; 2. I – опытная, II – контрольная группа.

Такая динамика показателей агрегационных свойств тромбоцитов свидетельствует о том, что ацелизин оказывает выраженный супрессорный эффект на коллаген-индуцированную агрегацию, который, скорее всего, реализуется через активацию металлопротеиназы ADAM17, которая, как известно [6], снижает экспрессию коллагеновых рецепторов – GPIIb и GPV.

В дальнейшем, на 7-е сутки, также отмечалось уменьшение агрегационного потенциала тромбоцитов у контрольных животных, однако разница между его показателями оставалась достоверной. В это время в опытных животных СИАТ был в 1,1 раза ($p < 0,01$), а САТ – в 2,5 раза ($p < 0,001$) меньшими. Даже на заключительном этапе воспалительно-регенеративного процесса при условии нормализации показателей СИАТ, скорость агрегации тромбоцитов у опытных собак была вдвое ниже ($p < 0,001$), чем у клинически здоровых животных. Поскольку скорость агрегации, преимущественно отражает адгезивные свойства тромбоцитов [7], то ее устойчивое снижение под влиянием ацелизина отражает собственно его антиадгезивный эффект.

Таким образом, послеоперационный период сопровождается длительной повышенной чувствительностью тромбоцитарных рецепторов к коллагену и, следственно, оказывает дополнительный флогогенный эффект в патологических очагах, который блокируется применением ацелизина.

Таблица 3.

Динамика показателей ристоцетин-индуцированной агрегации тромбоцитов собак после операций на кишечнике

Сутки	Группы	Ристоцетин		
		СИАТ, %	САТ, ед/мин	ИДТ, %
До операции	(n=15)	23,3±2,01	0,01±0,003	0
1-я	I (n=5)	<u>34,7±2,14</u>	<u>0,02±0,001</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	36,2±2,75	0,02±0,001	0
3-я	I (n=5)	<u>59,8±1,71</u> ***	<u>0,02±0,002</u> **	<u>0</u>
	II (n=5)	37,7±2,63	0,07±0,013	0
7-я	I (n=5)	<u>15,2±1,68</u>	<u>0,02±0,008</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	17,2±1,02	0,01±0,007	0
14-я	I (n=5)	<u>25,7±1,67</u>	<u>0,02±0,001</u>	<u>0</u>
	II (n=5)	25,5±2,34	0,02±0,005	0
Здоровые	n=21	30,3±3,27	0,03±0,009	1,62±0,65

Примечания: 1. Значение p^ - $<0,05$; $**$ - $<0,01$; $***$ - $<0,001$; остальное - $>0,05$ по сравнению с контрольной группой; 2. I - опытная, II - контрольная группа.*

При исследовании агрегации тромбоцитов с ристоцетином (табл. 3) ее показатели у собак с кишечной непроходимостью оказались сниженными: СИАТ - $23,3 \pm 2,01\%$ ($p > 0,05$) и САТ - $0,01 \pm 0,003$ ($p < 0,05$). Такая тенденция, очевидно, обусловлена повышенным уровнем коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов так как фактор Виллебранда в первую очередь связывается с коллагеновыми рецепторами. Поскольку последний является коллаген-имобилизованным кофактором [8], то коллаген- и ристоцетин-индуцированная агрегации имеют конкурентные взаимоотношения. На первые сутки после операции в реакции с ристоцетином в обеих группах животных усиливались адгезивно-агрегационные свойства тромбоцитов: СИАТ - в 1,5 раза ($p < 0,001$), САТ - вдвое ($p < 0,01$).

На третьи сутки после операции СИАТ в опытных собак увеличивался сравнительно с предыдущими сутками в 1,6 раза ($p < 0,001$). Учитывая экзогенное происхождение ристоцетина, его конкуренцию с коллагеном и снижение под влиянием ацелизина коллаген-индуцированной агрегации в этот период, увеличение ристоцетин-индуцированной агрегации можно расценивать как проявление функционального резерва тромбоцитов.

На 7-е сутки в животных обеих групп снижались все показатели ристоцетин-индуцированной агрегации с последующей нормализацией на 14-е сутки, что обусловлено как затуханием воспалительной реакции, так и нормализацией агрегации индуцированной природными агрегантами.

Заключение. Таким образом, развитие кишечной непроходимости сопровождается повышением адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов, которые максимально усиливаются на третьи сутки после ее оперативного устранения. В результате этого повышается коагуляционная кинетика, которая ухудшает реологию крови

в микроциркуляторном русле, способствует массивному фибринообразованию в местах повреждения перитонеальной оболочки с развитием тромбозов, что способствует развитию послеоперационных спаек. Вместе с тем, ацелизин снижает адгезивно-агрегационный потенциал тромбоцитов с сохранением их функционального резерва, что улучшает гемомикроциркуляцию и снижает уровень адгезивности брюшины.

Библиографический список:

1. Пустовіт Р.В. Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за 2003–2005 роки / Р.В. Пустовіт, Ю.М. Данилейко, М.В. Рубленко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Біла Церква, 2006. – Вип. 36. – С. 132–137.

2. Юрченко Л.І. Непрохідність кишечнику у собак і котів: діагностика та лікування / Л.І. Юрченко, О.Л. Юрченко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Біла Церква, 2006. – Вип. 41. – С. 256–262.

3. Хитров Н.К. Физиология и биохимия воспаления /Н.К. Хитров// Воспаление; под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. – М.: Медицина, 1995. – С. 39–99.

4. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation / Y.C. Cheong, S.M. Laird, T.C. Li // Hum. Reprod. Update. – 2001. – Vol. 7. – №6. – P. 556–566.

5. diZerega G.S. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation / G.S. diZerega, J.D. Campeau // Hum. Reprod. Upd. – 2001. – Vol.7, №6. – P. 547–555.

6. Aspirin induces platelet receptor shedding via ADAM17 (TACE) / B. Aktas, M. Pozgajova, W. Bergmeier et al. // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – №48. – P. 39716–39722.

7. Polanowska-Grabowska R. High-speed platelet adhesion under conditions of rapid flow / R. Polanowska-Grabowska, A.R. Gear // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – Vol. 89. – № 13. – P. 5754–5758.

8. Platelet-collagen interaction: inhibition by ristocetin and enhancement by von Willebrand factor-platelet binding / F.M. LaDuca, R.E. Bettigole, W.R. Bell et al. // Blood. – 1986. – Vol. 68. – № 4. – P. 927–937.