

Układ krzepnięcia u koni w aspekcie patologii porównawczej

BEATA ABRAMOWICZ, ANDRZEJ MILCZAK, BEATA KACZMAREK,
ŁUKASZ KUREK, TOMASZ RIHA, KRZYSZTOF LUTNICKI

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Otrzymano 22.11.2017

Zaakceptowano 19.02.2018

Abramowicz B., Milczak A., Kaczmarek B., Kurek Ł., Riha T., Lutnicki K.
Coagulation system in horses in the aspect of comparative pathology

Summary

The coagulation system, which is responsible for maintaining an organism's hemostasis, is present in all mammals; nevertheless, there are differences in the dynamics of processes of coagulation activation and fibrinolysis in individual species. In horses, the development of hemostasis processes is different at all stages in comparison to humans. Primary hemostasis is maintained at a relatively low number of thrombocytes with coexisting differences in the structure and morphology of blood platelets. For many years, primary hemostasis has been determined solely on the basis of coagulation time; currently, lumiagregometry or impedance aggregation is used. New techniques and technologies allow an ever broader view of the pathogenesis of many diseases in terms of the coagulation system's abnormalities, which either stand for an etiologic factor or only accompany the disease (they are its result).

In the course of horse colic, especially in acute and recurrent forms, there are several changes in the parameters of the hemostatic system. It is believed that DIC is the most common coagulopathy. However, there are no definite life-extending criteria as well as postmortem diagnosis of this syndrome. Changes in blood rheology after exercise are primarily due to an increase in hematocrit. The impact of exercise on the coagulation system in horses was analyzed, and showed a tendency in EIPH horses for the occurrence of hypercoagulability with the prolongation of blood coagulation parameters. The role and the contribution of the coagulation system in the etiopathogenesis of equine laminitis is not clear; in the case of carbohydrate overdose microthrombosis, reduced platelet survival and their over-aggregation have been reported. Clinical studies in sick animals show that coagulopathy such as DIC and antithrombin deficiency are not primary factors in the etiopathogenesis of laminitis.

Keywords: horses, horses colic, EIPH, laminitis

Hemostaza jest zespołem fizjologicznych mechanizmów, które zapewniają zarówno płynność krążącej krwi, jak i szczelność łożyska naczyniowego oraz sprawne hamowanie krwawienia po przerwaniu ciągłości ściany naczyń krwionośnych (10). Jest jednym z istotnych elementów zapewniających zachowanie homeostazy organizmu. Stan zdrowia zwierząt zależny jest między innymi od sprawnego funkcjonowania mechanizmów hemostazy wewnątrzustrojowej. Istotnym elementem patogenezy wielu chorób jest brak równowagi w oddziaływaniu czynników prokoagulacyjnych i antykoagulacyjnych.

Całość zjawisk dotyczących hemostazy można podzielić na trzy współistniejące procesy: hemostazę pierwotną, hemostazę wtórną i fibrynolizę. W warunkach fizjologicznych wszystkie te procesy są ze sobą powiązane i pozostają w stanie równowagi (15, 36).

Hemostaza pierwotna polega na niemal natychmiastowym, ale jedynie doraźnym powstrzymaniu krwawienia z uszkodzonego naczynia. Istotny udział biorą tu: naczynia krwionośne i przyległe tkanki, płytki krwi (trombocyty), białka układu krzepnięcia, białka układu fibrynolitycznego, inhibitory i aktywatory układu krzepnięcia i fibrynolizy, fagocyty, monocyty i granulocyty obojętnochłonne (15). Nadmiernemu wynacznieniu krwi z uszkodzonego naczynia krwionośnego zapobiega odruchowy skurcz mięśniówki oraz przyleganie (adhezja) i gromadzenie się (agregacja) płytek krwi w miejscu uszkodzenia. Mechanizm ten prowadzi do wytworzenia płytkowego czopu hemostatycznego. Uszkodzona ściana naczyniowa jest źródłem czynnika tkankowego (tissue factor – TF) i kolagenu, czynniki te inicjują aktywację kaskady krzepnięcia krwi i następnie powodują umacnianie czopu płytkowego przez złoży

fibryny. Powstały skrzep jest następnie rozpuszczany przez enzym fibrynolityczny – plazminę, co trwa kilka minut i jest nazywane hemostazą wtórną (2, 10, 17, 28, 29).

Ocena stanu układu krzepnięcia nie jest łatwa. Opracowano w tym celu wiele wskaźników laboratoryjnych, ale żaden z nich nie odzwierciedla całości procesów hemostazy. Podstawowy koagulogram, czyli laboratoryjna analiza układu hemostazy powinien określać, obok liczby płytek krwi, czas protrombinowy, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (dawniej czas kaolinowo-kefalinowy), czas trombinowy oraz stężenie fibrynogenu (29, 40).

Czas protrombinowy (PT) ocenia aktywność czynników zewnątrzpochoźnego i wspólnego szlaku krzepnięcia. Ulega on wydłużeniu przy niedoborze czynnika VII oraz czynników krzepnięcia II, V i X fibrynogenu (29, 31). Miarą aktywności czynników wewnątrzpochoźnego szlaku krzepnięcia, a także drogi wspólnej (VIII, IX, XI, XII) jest czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) (29, 31). Na czas trombinowy (TT) mają wpływ: stężenie i struktura fibrynogenu, aktywność inhibitorów trombinu oraz sprawność polimeryzacji i stabilizacji fibryny (17, 29). Czas trombinowy jest obecnie coraz rzadziej oznaczany, ponieważ większość laboratoriów dysponuje możliwością bezpośredniego lub pośredniego pomiaru stężenia fibrynogenu (17, 31). Wyniki wymienionych wyżej wskaźników rzadko pozwalają na postawienie pewnego rozpoznania. Panel podstawowych badań koagulologicznych często rozszerza się o dodatkowe wskaźniki. Spośród wielu badań dodatkowych na uwagę zasługuje stężenie D-dimerów i aktywność antytrombiny III (AT III). D-dimery są czułym markerem wewnątrznaczyniowego rozpadu stabilizowanej fibryny (47). W przebiegu zakrzepicy i zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego DIC ich stężenie znacząco wzrasta. Aktywność antytrombiny III, jako najważniejszego naturalnego antykoagulantu, ulega istotnemu obniżeniu między innymi w przebiegu zespołu DIC (47).

W tabeli 1 przedstawiono wartości referencyjne wskaźników koagulologicznych u koni. Interpretując wyniki badań koagulologicznych, należy zawsze odnosić się do wartości referencyjnych ustalonych przez laboratorium, któremu zlecono badania. Różnice w zakresie wartości referencyjnych mogą być niekiedy bardzo znaczne, co wynika z faktu, że metody koagu-

logiczne są bardzo wrażliwe na rodzaj używanych odczynników.

Mimo że układ hemostazy jest podobny u wszystkich ssaków, to jednak u różnych gatunków dynamika procesów aktywacji krzepnięcia i fibrynolizy znacznie różni się pod względem aktywności, a także ilości poszczególnych składników (17, 26). U koni przebieg procesów hemostazy na wszystkich etapach jest inny od wzorca znanego u ludzi. Prawidłowa hemostaza pierwotna u koni jest zachowana przy stosunkowo niskiej liczbie trombocytów – liczba płytek waha się w granicach od 90 000 do 400 000 w 1 μ l, co jest najniższą wartością fizjologiczną notowaną wśród ssaków. Różnice między trombocytami konia i człowieka dotyczą również morfologii i ultrastruktury. W barwionym rozmazie krwi u konia występują płytki o wielkości od 2-3 μ m do nawet 20 μ m, są one nieco mniejsze niż u człowieka, a ponadto wykazują znaczne zróżnicowanie wielkości (anizocytoza płytek). Więcej różnic ujawniają obserwacje w elektronowym mikroskopie transmisyjnym. Schemat wewnętrznej struktury płytki krwi obu gatunków jest podobny. Płytkę krwi jest oddzielona od otoczenia błoną komórkową pokrytą amorficznym płaszczem, zwanym glikokaliksem, który u człowieka ma liczne wgłębienia skierowane do wnętrza cytoplazmy, tworzące tak zwany układ otwartych kanalików (OCS – open canalicular system). Układ OCS służy do uwalniania do środowiska pozakomórkowego zawartości ziarnistości płytek po ich aktywacji. Istnienie OCS u koni jest kwestią sporną (4, 29, 34, 35). Wielu autorów jest zdania, że wynika to z trudności w interpretacji obrazów mikroskopowych, gdyż uzyskiwane w mikroskopie transmisyjnym dwuwymiarowe przekroje płytek nie zawsze pozwalały na precyzyjne odtworzenie trójwymiarowych struktur. Burso (4) stosując specjalne techniki impregnacji trombocytów, doszedł do wniosku, że u koni brak jest OCS, a zatem mechanizm sekrecji ziarnistości do otoczenia jest odmienny niż u człowieka. Wśród struktur wewnętrznych trombocytów zidentyfikowano u koni – podobnie jak u człowieka – podbłonowy system mikrotubuli, system kanalików gęstych oraz ziarnistości (alfa, delta – gęste i lambda) pełniące różne funkcje. Niektóre ziarnistości pełnią rolę lizosomów, inne syntetyzują białka i proteoglikany, a także biorą udział w procesach adhezyjnych, odpornościowych i naprawczych. Ziarnistości alfa zawierają: fibrynogen, czynnik von Willebranda, czynnik płytkowy 4 (PF-4)

beta-tromboglobulinę, trombospondynę, czynniki krzepnięcia V, XI i XIII, białko S, czynnik wzrostu TGF-beta, PDGF, selektynę P, kininogen. Ziarnistości alfa są u koni dwukrotnie większe niż w trombocytach człowieka. Alfa ziarnistości trombocytów człowieka nie mają jednorodnej gęstości, centralna część matrix ma gęstość większą niż obszary

Tab. 1. Wartości referencyjne wskaźników koagulacyjnych u koni

| Badany wskaźnik | Wartości referencyjne wg Iwaszko-Simonik (19) | Wartości referencyjne wg Knottenbelt (22) | Wartości referencyjne wg Cesarini (6) |
|---------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| Płytki krwi ($\times 10^9/l$) | 90-400 | 75-305 | - |
| PT (s) | 13-20 | 12-15 | 10-12,5 |
| APTT (s) | 50-65 | 45-70 | 36-48 |
| Fibrynogen (g/l) | 2-4,45 | < 4 | - |
| D-dimery (ng/mL) | < 10 | - | 0-500 |
| Antytrombina III (%) | 150-220 | 63-131 | 160-210 |

obwodowe. Wykazano, że jest to związane z nierównomiernym rozmieszczeniem substancji wypełniających ziarnistość na przykład: beta-tromboglobulina jest zlokalizowana centralnie, zaś fibrynogen lokalizuje się w obszarze o mniejszej gęstości. W alfa ziarnistościach konia rozmieszczenie tych substancji jest bardziej homogenne i charakteryzuje się równomierną gęstością na całej powierzchni przekroju. Po aktywacji trombiną trombocyty zmieniają kształt, a alfa ziarnistości mają tendencję do łączenia się ze sobą, następuje połączenie tych konglomeratów z błoną komórkową płytki i uwolnienie zawartości do otoczenia (4, 7, 11, 14, 27, 34, 35, 38).

Wydaje się logiczne, że odrębności strukturalne powinny się przekładać na różnice funkcjonalne, trudno to jednak udowodnić ponad wszelką wątpliwość. Nie jest do końca jasne ze względu na złożoność procesów, czy dostępne metody badania płytek odzwierciedlają reakcje zachodzące w trakcie adhezji i agregacji płytek *in vivo* (31).

Przez dziesięciolecia jedynym sposobem oceny hemostazy pierwotnej było badanie czasu krwawienia. Badanie to, choć proste w wykonaniu, często bywa obarczone błędem, spowodowanym najczęściej techniką jego wykonania. Kłopoty związane ze standaryzacją tego testu i trudnością w różnicowaniu zaburzeń płytkowych od naczyniowych skaz krwotocznych były powodem poszukiwania i opracowania takich badań, jak lumiagregometria czy agregometria impedancyjna. W badaniach tych obserwuje się reakcje trombocytów na rozmaite czynniki proadhezyjne i proagregacyjne. Badanie to jest bardziej precyzyjne niż ocena czasu krzepnięcia. Przeprowadzane jest w warunkach zbliżonych do warunków fizjologicznych i cechuje się dużą powtarzalnością wyników (18, 31, 35).

W początkowych fazach aktywacji, adhezji i agregacji jest zaangażowanych kilka glikoprotein. Wykazano, że na powierzchni płytek krwi człowieka występują 4 typy receptorów dla kolagenu. Dwa z nich, tj. GPIa, IIa oraz GPVI, wiążą się z kolagenem bezpośrednio, a dwa pozostałe (GPIIb/IIIa i GPIb) za pośrednictwem czynnika von Willebranda (vWF). GPIb wspomaga adhezję trombocytów poprzez oddziaływanie z podśródbłonkowym vWF. Konsekwencją procesu aktywacji jest uruchomienie etapu sekrecji substancji biologicznie czynnych, głównie ADP (adenozyno-5'-difosforan) i tromboksanu A₂ (TxA₂), które odgrywają kluczową rolę w procesie agregacji płytek. GPIIb-IIIa bierze udział w tworzeniu czopu (rozprzestrzenianiu i agregowaniu płytek). P-selektyna i LIMP (lysosomal integral membrane protein) tworzą właściwe środowisko do odłożenia fibryny w czopie. Segura i wsp. (35) zaobserwowali umiarkowaną agregację trombocytów koni w odpowiedzi na ADP. Agregacja pod wpływem ADP miała charakter odwracalny. Podobne zachowanie płytek krwi obserwuje się u innych zwierząt, u których nie występuje system otwartych kanalików. Wspomniani badacze zaobserwowali także u koni brak nasilenia adhezji płytek

w odpowiedzi na agonistę czynnika vWF – rystocetynę (10, 27, 35). Rystocetyna jest antybiotykiem, który w warunkach *in vitro* pośredniczy w wiązaniu vWF z płytkową glikoproteiną Ib (31). Brak reakcji płytek w teście z rystocetyną pozwala sądzić, że połączenie GPIb z vWF – kofaktorem rystocetyny – nie odgrywa u koni kluczowej roli w procesie adhezji. W trakcie tych samych badań wykazano, że kwas arachidonowy, analog tromboksanu i epinefryna nie stymulują agregacji płytek konia (35). Segura i wsp. (35) wysnuli ze swojego doświadczenia wnioszek, iż inhibitory cyklooksygenazy mogą mieć ograniczoną skuteczność w zapobieganiu choroby zatorowo-zakrzepowej żył u koni.

Wyniki niepublikowanych badań własnych (Milczak – dane niepublikowane) wydają się potwierdzać obserwacje Segury i wsp. (35). W badaniach tych do oceny zdolności adhezyjnych i agregacyjnych trombocytów końskich wykorzystywano system PFA 200 (Siemens). Urządzenie wykorzystuje gotowe zestawy zawierające kapilarę, której wewnętrzna powierzchnia pokryta jest kolagenem i związkami powodującymi aktywację trombocytów (ADP, epinefryna). Badana krew przepływa przez kapilarę. Pod wpływem tworzącego się czopu płytkowego jej światło po pewnym czasie ulega okluzji. Symuluje to warunki aktywacji występujące *in vivo* po uszkodzeniu śródbłonka naczyniowego. W niepublikowanych badaniach własnych (Milczak – dane niepublikowane) przeprowadzonych na grupie kilkudziesięciu koni stwierdzono, że adhezja i agregacja płytek zachodzą zarówno pod wpływem ADP i kolagenu, jak i epinefryny i kolagenu, przy czym czas okluzji kapilar z epinefryną i kolagenem jest znacznie dłuższy niż w kapilarach z ADP i kolagenem. Wyniki te przemawiają za istotną rolą ADP w procesie agregacji płytek. Okluzja kapilar z epinefryną i kolagenem nie dowodzi proagregacyjnego wpływu epinefryny na końskie trombocyty, gdyż podstawowym czynnikiem aktywującym płytki krwi jest kolagen.

Przy porównywaniu układów krzepnięcia osoczonego różnych gatunków zwierząt uwagę zwracają znaczne nieraz różnice w aktywności poszczególnych czynników krzepnięcia. Cechą gatunkową koni jest mniejsza niż u człowieka aktywność czynnika XII. Dość często spotyka się u tych zwierząt wrodzony niedobór tego czynnika (15). Zmiana ta nie prowadzi jednak do wystąpienia jawnych skaz krwotocznych u wszystkich zwierząt dotkniętych tym niedoborem. W niektórych przypadkach niedobór czynnika XII zostaje stwierdzony w trakcie badań kontrolnych układu krzepnięcia. Według aktualnych danych, w warunkach fizjologicznych szlak wewnątrzpochodny pełni mniej znaczącą rolę w utrzymaniu sprawności mechanizmów hemostazy w porównaniu do szlaku zewnątrzpochodnego, ze względu na istnienie alternatywnych szlaków aktywacji czynnika X (15, 25).

Krwawienia po zabiegu kastracji obserwowano u koni ze skrajnie niską aktywnością czynnika XII (poniżej 1%) i niskim stężeniem prekalikreiny (PK) w surowi-

cy. Poza tym u niewielkiego odsetka koni obserwuje się dziedziczny niedobór czynnika VIII (hemofilia A) i IX (hemofilia B) w krwi. Niedobory te prowadzą do spontanicznych epizodów krwawień przy spadku aktywności wyżej wymienionych czynników do poziomu 5% normalnych wartości. Krwawienia częściej spotyka się w tych stanach jako odpowiedź na czynniki zewnętrzne, takie jak: stres, duży wysiłek, urazy czy zabiegi chirurgiczne (15).

Inną cechą gatunkową koni jest zdolność do syntezy dużej ilości fibrynogenu w odpowiedzi na czynniki prozapalne (37). Wzrost stężenia fibrynogenu w osoczu powoduje zwiększoną lepkość krwi, utrudniającą jej przepływ w naczyniach, co stanowi podwyższone ryzyko powikłań zatorowo-zakrzepowych. Jak wykazano u ludzi, to właśnie stężenie fibrynogenu jest głównym czynnikiem ryzyka rozwoju ostrej choroby wieńcowej (17, 23).

Układ krzepnięcia w przebiegu chorób morzyskowych u koni

Morzyska (choroby kolkowe) koniowatych są ciągle wyzwaniem w praktyce weterynaryjnej zarówno w aspekcie diagnostycznym, jak i terapeutycznym. Do najczęstszych przyczyn tych chorób zalicza się: błędy żywieniowe, mechaniczne niedrożności jelit oraz wtórne zaburzenia motoryki przewodu pokarmowego. W przebiegu morzysk, zwłaszcza w ostrych i nawracających ich postaciach, obserwuje się u chorych koni szereg zmian w parametrach układu hemostazy, takich jak: małopłytkowość, zwiększenie średniej objętości płytek krwi, wydłużenie bądź skrócenie czasów krzepnięcia osoczonego oraz hipofibrynogenemia. Uważa się, że zmiany te są wynikiem aktywacji układu krzepnięcia pod wpływem towarzyszących morzyskom zaburzeń krążenia (wstrząs, niedokrwienie i reperfuzja), procesów zapalnych (pierwotnych i wtórnych), a także endotoksemii. Od dawna wiadomo, że endotoksyna uwalniana przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* powoduje aktywację układu krzepnięcia. Pobudza ona komórki śródbłonna naczyniowego i monocyty do syntezy czynnika tkankowego (TK). Czynniki TK łącząc się z czynnikiem VII, tworzą kompleks TK-VIIa, uruchamiając kaskadę krzepnięcia w szlaku zewnątrz-pochodnym. Ponadto endotoksyna uszkadza śródbłonek naczyń krwionośnych, aktywując czynnik XII układu krzepnięcia oraz stymuluje syntezę tromboksanu A_2 . Jednym z możliwych następstw takiej niekontrolowanej aktywacji układu krzepnięcia może być zespół rozsianego wykrzepiania śródnaczyniowego (DIC) (1, 17, 19, 48). W wyniku zachwiania równowagi pomiędzy procesami krzepnięcia i fibrynolizy dochodzi tu do powstawania mikrozakrzepów, które zatykają naczynia włosowate.

Większość autorów stoi na stanowisku, że właśnie DIC jest najbardziej powszechną koagulopatią towarzyszącą morzyskom u koni (6, 17, 48). W chorobach morzyskowych u koni zespół ten jest przyczyną licznych

powikłań i niepowodzeń terapeutycznych. Może on przebiegać w formie jawnej – z towarzyszącymi objawami klinicznymi skazy krwotocznej lub podklinicznej. Iwaszko-Simonik (17) podaje, iż podkliniczna postać DIC często towarzyszy chorobom przewodu pokarmowego wymagającym interwencji chirurgicznej. Według Iwaszko-Simonik i wsp. (17) problemy z krzepnięciem krwi, objawiające się licznymi wybroczynami w tkankach, trudnymi do opanowania krwotokami wynikłymi ze zużycia czynników krzepnięcia spotyka się m.in. u koni w przebiegu morzysk wikłanych endotoksemią. Abutarbush (1) szacuje, że występuje on aż u 40-50% koni w przebiegu ostrych bólów kolkowych i ok. 40% przypadków przemieszczenia i skrętu okrężnicy dużej.

Do danych tych należy podchodzić z dużą ostrożnością. Do chwili obecnej brak jest jednoznacznych kryteriów przyżyciowego, jak i pośmiertnego rozpoznania DIC. Według Cesariniego i wsp. (5), najistotniejszymi parametrami laboratoryjnymi, przydatnymi w diagnostyce DIC u koni są: PT, APTT oraz stężenie D-dimerów i antytrombiny III. W przebiegu jawnej postaci DIC czasy PT i APTT ulegają wydłużeniu, wzrasta w osoczu stężenie D-dimerów i spada aktywność antytrombiny III. Jest to wynik zużywania się czynników krzepnięcia w następstwie odkładania się złożeń fibryny w obszarze mikrokrążenia i następowego uruchomienia fibrynolizy. Punkt odcięcia dla wymienionych wyżej parametrów, Cesarini przyjął na poziomie > 15 s dla PT, > 65 s dla APTT, > 1000 ng/mL dla stężenia D-dimerów i < 140% dla aktywności ATIII. Niestety, nie wykazano korelacji pomiędzy przyżyciowym rozpoznaniem postawionym na tej podstawie a obecnością złożeń fibryny w naczyniach włosowatych stwierdzaną *post mortem* w badaniu histopatologicznym (5, 6, 48).

W 2001 r. International Society on Thrombosis and Hemostasis (ISTH) opracowało skalę punktową (DIC Scoring System) pomocną przy rozpoznawaniu jawnej postaci DIC u ludzi. Uwzględniają one zmiany następujących parametrów: obniżenie liczby płytek krwi, wydłużenie czasu krzepnięcia PT, wydłużenie czasu krzepnięcia APTT, obniżenie aktywności antytrombiny, obniżenie stężenia fibrynogenu, wzrost stężenia D-dimerów.

Jednym z istotnych kryteriów diagnostycznych jest liczba płytek krwi. W przebiegu DIC obserwuje się małopłytkowość, ponieważ ulegają one zużyciu. Diagnostyka zespołu DIC u zwierząt także opiera się na powyższych wytycznych. Zmiany w co najmniej 3 z 6 wymienionych wyżej parametrów bez objawów klinicznych wskazują na podkliniczną postać DIC (5, 17). U koni małopłytkowość towarzysząca morzyskom może być również wynikiem uszkodzenia integralności błony śluzowej jelita i rozwoju zapalenia z następowym uwalnianiem prozapalnych cytokin, które wpływają na proces dojrzewania megakariocytów i trombopojezę, przez co produkcja płytek krwi ulega upośledzeniu, a powstające trombocyty są mniejsze, ponieważ wielkość płytek jest determinowana w momencie ich po-

wstawania (8, 24). Najprawdopodobniej jest to wynik oddziaływania cytokinin prozapalnych na dojrzewanie megakariocytów i trombopoezę (3, 21, 24).

Układ krzepnięcia w krwawieniach powysiłkowych z płuc u koni (EIPH)

Krwawienia powysiłkowe z płuc są dość częstym problemem u koni sportowych. Występuje głównie u kłusaków i galopujących koni. Etiopatogeneza nie jest do końca wyjaśniona. Wśród przyczyn tego stanu autorzy (9, 16, 30) najczęściej wymieniają wzrost ciśnienia w tętnicy płucnej, przeszkody w drogach oddechowych, wzrost lepkości krwi po wysiłku oraz stany zapalne w drogach oddechowych, ewentualnie zmiany w układzie krzepnięcia krwi.

Zmiany właściwości reologicznej krwi po wysiłku wynikają przede wszystkim ze wzrostu wskaźnika hematokrytu. Efekt ten obserwuje się zarówno u koni zdrowych, jak i dotkniętych EIPH (16, 47). Na wzrost wskaźnika hematokrytu wpływ wywiera nie tylko intensywny, ale i umiarkowany wysiłek (47, Kaczmarek, Abramowicz – dane niepublikowane). W niepublikowanych badaniach własnych oceniano parametry hematologiczne kuców felińskich pracujących na bieżni przez 25 minut, przy nachyleniu bieżni 0° kuce poruszały się stępem przez 10 min, przy średniej prędkości 2,5 km/h, następnie kłusem przez 5 min przy średniej prędkości 4 km/h i ponownie stępem przez 10 min z średnią prędkością 2,5 km/h. Szybkość bieżni była ustawiana w zależności od wielkości konia. Ten niewielki wysiłek spowodował istotny wzrost liczby erytrocytów, a także umiarkowaną leukocytozę i wzrost liczby płytek krwi. Badania te potwierdzają znany fakt, iż wysiłek powoduje przejście do puli krążącej komórek z puli marginalnej i śledzionowej. Podczas intensywnego i długotrwałego wysiłku efekt ten potęgowany jest przez zagęszczenia krwi wskutek odwodnienia po wysiłku (47).

Kwestia wpływu wysiłku na układ krzepnięcia koni pozostaje otwarta (13, 16, 20). We wspomnianych wyżej badaniach własnych (Kaczmarek, Abramowicz – dane niepublikowane) autorzy odnotowali nieznaczne wahania czasów krzepnięcia (PT, APTT, TT) i podwyższenie stężenia fibrynogenu bezpośrednio po zakończeniu wysiłku. Parametry zmieniały się także po półgodzinnym odpoczynku, nie powracając do wartości wyjściowych. Należy jednak zaznaczyć, że obserwowane zmiany były niewielkie i nieistotne statystycznie, a żaden z badanych parametrów nie wykroczył poza granice norm referencyjnych. Nieco podobne wyniki uzyskała Zbanyszek (47), która przeprowadziła badania na grupie koni sportowych pokonujących dystans 60 km, 90 km i 120 km. U zwierząt tych wszystkie badane wskaźniki (PT, APTT, TT, liczba płytek krwi i stężenie D-dimerów) mieściły w zakresie norm referencyjnych. Odnotowano jedynie niewielkie zmiany w liczbie płytek krwi i mierne wydłużenie APTT. Autorka skonstatowała, że intensywny wysiłek nie wywiera istotnego wpływu na podstawowe wskaźniki koagulologiczne.

Mniej kategorię wniosków z doświadczeń na koniach poddawanych wysiłkowi sformułowali Giordano i wsp. (16). Badano układ krzepnięcia koni przy użyciu tromboelastometru, porównując grupę koni zdrowych i z grupą koni, u których występowały krwawienia powysiłkowe z płuc. Stwierdzili oni, że konie z EIPH wykazują tendencje do nadkrzepliwości. Za takim wnioskiem przemawiały: krótszy czas krzepnięcia i formowania się skrzepu oraz większa siła skrzepu. Stwierdzono także, że w grupie zwierząt z EIPH liczba płytek krwi była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej, choć wartości te mieściły się w zakresie norm referencyjnych, jednakże i w tych badaniach obserwowane zmiany ocenianych parametrów nie były statystycznie istotne w porównaniu z grupą kontrolną. Autorzy zasugerowali, że zwiększona krzepliwość krwi mogła być spowodowana wzrostem stężeniem fibrynogenu, choć nie mierzyli jego stężenia metodami ilościowymi, a jedynie oceniali na podstawie testu fibTEM. Test ten bada mechaniczne właściwości skrzepu i jest przydatny w szybkim monitorowaniu zmian stężenia fibrynogenu (41).

Układ krzepnięcia w ochwacie u koni

Analizując dostępną literaturę (12, 32, 33, 38, 42-46), pod kątem istotnych zmian w układzie hemostazy u koni z ochwatem trudno zająć jednoznaczne stanowisko. Rola i udział układu krzepnięcia w etiopatogenezie ochwatu koniowatych nie jest jasna, a poglądy na ten temat są różne w zależności od autorów. Niewątpliwie układ hemostazy ma pewne znaczenie w etiologii i patogenezie tej choroby koniowatych. Weiss i wsp. (42-46) badali możliwy udział zakrzepowości w naczyniach ściany kopyta, biorąc pod uwagę zaburzenia hemostazy i hemodynamiki metodą scyntygraficzną i rtg. Badania te potwierdziły, że w przypadku ochwatu spowodowanego nadmiernym skarmianiem węglowodanów mamy do czynienia z wystąpieniem mikrozakrzepów i ogólnoustrojową koagulopatią, która może prowadzić do zakrzepowości. Obserwowano obniżoną przeżywalność płytek w ciągu pierwszych 6 godzin rozwoju ochwatu, nie stwierdzono natomiast ogólnoustrojowego pobudzenia układu krzepnięcia. Zjawiska prozakrzepowe obserwowane mogą nie być związane z aktywacją układu krzepnięcia i fibrynolizy. W kolejnych badaniach autorzy ci (42-46) stwierdzili, że w początkowym stadium ochwatu pokarmowego (na tle pokarmowym) dochodzi do nadmiernej agregacji płytek i tworzą agregaty z neutrofilami. Te agregaty mogą zapoczątkowywać lub przyczyniać się do rozwoju ostrej postaci ochwatu, stąd też pomysły stosowania terapii przeciwplatekowej w zapobieganiu i leczeniu ostrego ochwatu pochodzenia alimentarnego. Eliot i Bailey (12) zwracają uwagę na rolę tryptaminy powstającej w dużych ilościach w jelicie ślepym koni jako czynnika aktywującego receptory serotoninowe i uwalnianie serotoniny z płytek, co ma mieć duże znaczenie w etiopatogenezie ochwatu.

Inni badacze (32, 33, 38), którzy wywoływali eksperymentalnie ostry ochwat u koni, po przeanalizowaniu

badan laboratoryjnych nie stwierdzali istotnych zmian w liczbie płytek krwi w układzie krzepnięcia i fibrynolizy. Tym samym zakwestionowano teorie powstawania ochwatu z powodu patologii naczyniowej. Z badań klinicznych przeprowadzonych na chorych zwierzętach wynika, iż należy wykluczyć występowanie koagulopatii, takich jak DIC i niedobór antytrombiny z patogenezы ochwatu koni.

Badanie układu krzepnięcia jest istotnym elementem w ocenie ogólnego stanu zdrowia koni, pomocnym w diagnostyce wielu chorób przebiegających z zaburzeniami układu krwiotwórczego, między innymi w morzyskach i krwawieniach powysiłkowych koni. Wspomaga proces decyzyjny co do rokowania i monitorowanie skutków podjętego leczenia zwierząt, stąd powinno być brane pod uwagę, jako istotny element wielu paneli diagnostycznych.

Piśmiennictwo

1. *Abutarbush S. M., Carmalt J. L., Shoemaker R. W.*: Causes of gastrointestinal colic in horses in western Canada: 604 cases (1992 to 2002). *Can. Vet. J.* 2005, 46, 800-805.
2. *Alcott C., Brockus C., Sponseller B.*: Hemostasis. *Compendium Equine: Continuing Education for Veterinarians*, March 2009, s. 78-89.
3. *Alsaad K. M., Nori A. A.*: Equine colic and coagulation disorders. *JAVA* 2009, 8, 2675-2679.
4. *Brunso L., Segura D., Monreal L., Escolar G., White J. G., Diaz-Ricart M.*: The secretory mechanisms in equine platelets are independent of cytoskeletal polymerization and occur through membrane fusion. *Platelets* 2010, 21, 658-666.
5. *Cesarini C., Cotovio M., Rios J., Armengou L., Jose-Cunilleras E.*: Association between necropsy evidence of disseminated intravascular coagulation and hemostatic variables before death in horses with colic. *J. Vet. Intern. Med.* 2016, 30, 269-275.
6. *Cesarini C., Monreal L., Armengou L., Delgado M. A., Rios J., Jose-Cunilleras E.*: Association of admission plasma D-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, 24, 1490-1497.
7. *Choi W., Karim Z. A., Whiteheart S. W.*: Protein expression in platelets from six species that differ in their open canalicular system. *Platelets* 2010, 21, 167-75. Doi: 10.3109/09537101003611385.
8. *Danese S., Papa A., Saibeni S., Repici A., Malesci A., Vecchi M.*: Inflammation and coagulation in inflammatory bowel disease: The clot thickens. *Am. J. Gastroenterol.* 2007, 102, 174-186.
9. *Dietz O., Huskamp B.*: Praktyka kliniczna koni. Galaktyka, Łódź 2011, s. 383-385.
10. *Domaszyńska A., Robak T., Hus I.*: Podstawy hematologii. Wyd. Czelej, Lublin 2014, s. 23-32.
11. *Dvorak A. M., Monahan-Earley R. A.*: Diagnostic ultrastructural pathology: A text-atlas of case studies illustrating the correlative clinical-ultrastructural-pathology approach to diagnosis. CRC Press, Florida 1992.
12. *Elliot J., Bailey S. R.*: Gastrointestinal derived factors are potential triggers for the development of acute equine laminitis. *J. Nutr.* 2006, 136, 2103S-2107S.
13. *Epp T. S., Edwards K. L., Poole D. C., Erickson H. H.*: Effects of conjugated oestrogens and aminocaproic acid upon exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH). *Comp. Exerc. Physiol.* 2008, 5, 95-103.
14. *Gader A. G., Ghumlas A. K., Hussain M. F., Haidari A. A., White J. G.*: The ultrastructure of camel blood platelets: a comparative study with human, bovine, and equine cells. *Platelets* 2008, 19, 51-58. Doi: 10.1080/09537100701627151
15. *Gentry P. A.*: Comparative aspects of blood coagulation. *Vet. J.* 2004, 168, 238-251.
16. *Giordano A., Meazza C., Salvadori M., Paltrinieri S.*: Thromboelastometric profiles of horses affected by exercise-induced pulmonary hemorrhages. *Vet. Med. Int.* 2010. Doi:10.4061/2010/945789.
17. *Iwaszko-Simonik A.*: Wskaźniki hemostazy w niedrożności jelit u koni. Praca dokt. Wyd. Med. Wet. UP, Wrocław 2013.
18. *Iwaszko-Simonik A., Graczyk S.*: Evaluation of platelet function in horses undergoing colic surgery using the PFA-100 platelet function analyser. *Vet. Med. Czech* 2015, 60, 476-482.
19. *Iwaszko-Simonik A., Pliszczak-Król A., Graczyk S.*: Podstawy diagnostyki i terapii zaburzeń krzepnięcia krwi w przebiegu morzysk u koni. *Życie Wet.* 2011, 86, 360-364.
20. *Johnstone I. B., Viel L., Crane S., Whiting T.*: Hemostatic studies in racing standardbred horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. Hemostatic parameters at rest and after moderate exercise. *Can. J. Vet. Res.* 1991, 55, 101-106.
21. *Kaushansky K.*: Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis. *ASH Hematol. Educ. Program.* 2009, 147-52. Doi: 10.1182/asheducation-2009.1.147.
22. *Knottenbelt D. C.*: Saunders Equine Formulary. Elsevier Health Sciences, Philadelphia 2006, s. 22.
23. *Kostro K., Gliński Z.*: Białka ostrej fazy u zwierząt. Wyd. UP Lublin 2003, s. 265.
24. *Kralisz M., Matowicka-Karna J.*: Ocena parametrów morfologicznych płytek krwi w przebiegu giardiozy. *Pol. Merk. Lek.* 2008, XXV (150), 480-483.
25. *Lewandowski K.*: Wybrane problemy trombofilii. *Acta Haematol. Pol.* 2010, 41, 201-207.
26. *Lewis J. H.*: Comparative Hemostasis in Vertebrates. Springer Science & Business Media, New York 2013.
27. *McMichael M.*: Primary hemostasis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 2005, 15, 1-8.
28. *Mebius M. M., van Genderen P. J. J., Urbanus R. T., Aloysius G. M. Tielens, de Groot P. G., van Hellemond J. J.*: Interference with the Host Haemostatic System by Schistosomes. *PLOS Pathogens* 2013, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003781>.
29. *Meyer D. J., Harvey J. W.*: Diagnostyka weterynaryjna w weterynarii. Elsevier Urban&Partner, Wrocław 2013, s. 93-113.
30. *Morán G., Folch H.*: Exercise-induced pulmonary haemorrhage in horses – review. *Acta Vet. Brno* 2013, 82, 309-316.
31. *Pawelski S. (red.)*: Diagnostyka laboratoryjna w hematologii. PZWL, Warszawa 1990, s. 193-262.
32. *Pollitt C. C.*: Equine Laminitis: A Revised Pathophysiology. *AAEP*, 1999, 45, 188-192.
33. *Prasse K. W., Allen D. Jr., Moore J. N., Duncan A.*: Evaluation of coagulation and fibrinolysis during the prodromal stages of carbohydrate-induced acute laminitis in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1990, 51, 1950-1955.
34. *Rao G. H. R.*: Handbook of Platelet Physiology and Pharmacology. Springer Science and Business Media, LLC, New York 2012.
35. *Segura D., Monreal L., Pe'rez-Pujol S., Pino M., Ordinas A., Brugue's A., White J. G., Escolar G.*: Assessment of platelet function in horses: ultrastructure, flow cytometry, and perfusion techniques. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, 20, 581-588.
36. *Socha T., Skotnicki A.*: Zaburzenia krzepnięcia krwi. Diagnostyka i leczenie. Medycyna Prakt. Kraków 1997.
37. *Steelman S. M., Chowdhary B. P.*: Plasma proteomics shows an elevation of the anti-inflammatory protein APOA-IV in chronic equine laminitis. *BMC Vet. Res.* 2012, 8, 179-188.
38. *Śliwińska-Stańczyk P.*: Rola płytek krwi w procesach zapalnych. *Reumatologia* 2005, 43, 85-88.
39. *Tamzali Y., Guelfi J. F., Braun J. P.*: Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC – Vet Autoreader™. *Res. Vet. Sci.* 2001, 71, 213-217.
40. *Triplett D. A.*: Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clin. Chem.* 2000, 46, 1260-1269.
41. *Trzebicki J., Kuźmińska G., Nicińska B., Flakiewicz E., Kulik A., Łazowski T.*: Zastosowanie tromboelastometrii w monitorowaniu dynamiki narastania, jakości i lizy skrzepu krwi pełnej – nowe możliwości szybkiej i pewnej diagnostyki. *Anest. Ratow.* 2013, 7, 53-62.
42. *Weiss D. J., Evanson O. A., McClenahan D., Fagliari J. J., Dunnwiddie C. T., Wells R. E.*: Effect of a competitive inhibitor of platelet aggregation on experimentally induced laminitis in ponies. *Am. J. Vet. Res.* 1998, 59, 814-817.
43. *Weiss D. J., Evanson O. A., McClenahan D., Fagliari J. J., Jenkins K.*: Evaluation of platelet activation and platelet-neutrophil aggregates in ponies with alimentary laminitis. *Am. J. Vet. Res.* 1997, 58, 1376-1380.
44. *Weiss D. J., Geor R. J., Johnston G., Trent A. M.*: Microvascular thrombosis associated with onset of acute laminitis in ponies. *Am. J. Vet. Res.* 1994, 55, 606-612.
45. *Weiss D. J., Monreal L., Angles A. M., Monasterio J.*: Evaluation of thrombin-antithrombin complexes and fibrin fragment D in carbohydrate-induced acute laminitis. *Res. Vet. Sci.* 1996, 61, 157-159.
46. *Weiss D. J., Trent A. M., Johnston G.*: Prothrombotic events in the prodromal stages of acute laminitis in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1995, 56, 986-991.
47. *Zbanyszek M.*: Wpływ wysiłku na stan układu krzepnięcia u koni sportowych. *Med. Weter.* 2006, 62, 1322-1326.
48. *Zbanyszek M., Procajlo A., Stopyra A., Sobiech P., Rajski K.*: The coagulation system in horses with colic. *Pol. J. Vet. Sci.* 2004, 7, 53-58.

Adres autora: dr Beata Abramowicz, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin; e-mail: beata.abramowicz13@gmail.com