

and a level of fibrinogen and soluble fibrin complex significantly increased. At the same increasing of thrombus formation in males in the postoperative period we did not observe. Consequently this changes in the hemostatic system in healthy dogs of both sexes have the bleeding stop function under stress and may be the mechanism of adaptation to surgical trauma. Nevertheless, there is every reason to talk about the increased risk of hypercoagulable states in males during surgery

Сведения об авторах:

Баруздина Елена Сергеевна, аспирант Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: 8-921-123-49-03; e-mail: vologda-agility@mail.ru

Ошуркова Юлия Леонидовна, канд. биол. наук, доцент Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: 8-911-511-37-89; e-mail: oshurkovajul@yandex.ru

Author affiliation:

Baruzdina Elena Sergeevna, Post-graduate Student of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; 2, Schmidt str., p. Molochnoye, Vologda region, Russia, 160555; phone: 8-921-123-49-03; e-mail: vologda-agility@mail.ru

Oshurkova Yulia Leonidovna, Ph.D. in Biology, Associate Professor of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; 2, Schmidt str., p. Molochnoye, Vologda region, Russia, 160555; phone: 8-911-511-37-89; e-mail: oshurkovajul@yandex.ru

УДК 636.7:612.115

Баруздина Е.С., Ошуркова ЮЛ.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ЗДОРОВЫХ СОБАК В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Ключевые слова: гемостаз, пожилые собаки гиперфибриногенемия, гиперкоагуляция

Резюме: Целью данного исследования стало изучение функционирования системы гемостаза у здоровых собак в пожилом возрасте. В исследовании принимали участие 12 клинически здоровых собак разных пород в возрасте от 8 до 16 лет. Сравнение полученных результатов проводили с группой здоровых взрослых собак в количестве 20 животных. В целом, адгезивно-агрегационные свойства тромбоцитов у пожилых собак были выше, чем у взрослых собак. При этом достоверно установлено образование более устойчивых агрегатов под действием коллагена ($2,21 \pm 0,76\%$ у пожилых против $5,02 \pm 0,94\%$ у взрослых собак), что является следствием понижения активности противосвертывающей системы. А также наблюдается достоверное повышение скорости агрегации с ристомидином ($0,007 \pm 0,002$ мин. у пожилых против $0,016 \pm 0,003$ мин. у взрослых собак). В плазме крови собак с возрастом повышается концентрация фибриногена ($1,98 \pm 0,12$ г/л у взрослых до $2,94 \pm 0,25$ г/л у пожилых собак). В связи с этим укорачивается тромбиновое время ($12,7 \pm 0,44$ сек. у взрослых до $11,01 \pm 0,48$ сек. у пожилых собак) и увеличивается концентрация РФМК ($7,30 \pm 0,76$ мг/100мл против $5,24 \pm 0,37$ мг/100мл у взрослых собак). Наблюдаемые нами особенности системы гемостаза у пожилых собак, вполне вероятно, могут приводить к повышению риска гиперкоагуляционных состояний в этом возрасте.

Введение

Старение – это сложный процесс биологического характера, который приводит к постепенному снижению способностей организма поддерживать гомеостаз. Одна-

ко сама старость – это не болезнь, а скорее необратимая и постепенная потеря функциональных и резервных возможностей органов и систем, которая приводит к прогрессирующему снижению способности

справляться со стрессами – физиологическими или обусловленными окружающей средой. Возрастные изменения, связанные со старением, безусловно, не могут не затрагивать систему гемостаза.

У пожилых людей отмечается повышенный уровень белков свертывания, в том числе фибриногена, пониженное количество тромбоцитов при их высокой агрегационной активности и понижение активности противосвертывающей и фибринолитической систем, что повышает риск гиперкоагуляционных состояний [1 - 7].

У собак мы не обнаружили литературных данных по возрастным изменениям показателей гемостаза, однако немало исследований описывают вариации гематологических показателей, связанные с возрастом. Количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит и количество тромбоцитов увеличиваются с возрастом, в то время как количество лейкоцитов уменьшается [8, 9]. Lawtence и соавт. отметили, что у пожилых собак наблюдается уменьшение эритропоэза со снижением почечного синтеза эритропоэтина и большей склонностью к воспалительным заболеваниям. При этом концентрация лимфоцитов существенно уменьшается с возрастом, что, скорее всего, имеет иммунологическое происхождение. Также наблюдалось прогрессивное увеличение концентрации тромбоцитов с возрастом, что, скорее всего, опять связано с увеличением воспалительных явлений [10]. Хотя многие исследования на сегодняшний день полагают, что концентрация тромбоцитов у собак уменьшается с возрастом [11]. В связи с этим, мы предположили, что параметры системы гемостаза у собак старшего возраста также могут варьировать по мере старения.

Поэтому целью нашего исследования стало изучение функционирования системы гемостаза у здоровых собак в пожилом возрасте.

Материалы и методы исследований

В нашем исследовании принимали участие 12 клинически здоровых собак разных пород в возрасте от 8 до 16 лет, из них 6 кобелей и 6 сук, проживающих в городе Вологде. Группу пожилых собак представляли пудели (n = 2), метисы (n = 6), немецкие овчарки (n = 2), кавказская овчарка (n = 1) и такса (n = 1).

Сравнение полученных результатов проводили с группой здоровых взрослых собак в количестве 20 животных [12].

Отбор собак для исследования произ-

водился с помощью клинического осмотра, гематологического и биохимического анализов крови.

Подсчет тромбоцитов производили по Фонию в мазке крови, стабилизированной ЭДТА, и окрашенных по Романовскому.

Адгезивно-агрегационную активность тромбоцитов определяли количественным методом по Howard M.A [13]. Для исследования брали кровь в вакуумные пластиковые пробирки, содержащие 3,8%-ный раствор цитрата натрия. Определяли суммирующий индекс агрегации тромбоцитов (СИАТ), скорость агрегации (СА) и индекс дезагрегации тромбоцитов (ИДТ) с индукторами агрегации – аденозиндифосфат (АДФ) (концентрация 0,1 мг/мл), коллагеном (концентрация 20 мг/мл) и ристомиином (концентрация 15 мг/мл).

Параметры плазменно-коагуляционного гемостаза определяли на двухканальном коагулометре «Thrombostat» производства Behnk Elektronik (Германия). Для оценки состояния плазменно-коагуляционного гемостаза определяли следующие показатели: АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПВ (протромбиновое время), ТВ (тромбиновое время), количественный анализ фибриногена.

Функцию противосвертывающей системы оценивали с помощью измерения активности антитромбина III (АТ III) с хромогенным субстратом в бедной тромбоцитами плазме (принцип U. Abildgaard в модификации А.П. Момота и А.Н. Мамаева) [14]. Фибринолитическую активность в плазме исследуемых животных измеряли с помощью обнаружения растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в о-фенантролиновой пробе (планшетный вариант)

Полученные в ходе исследования результаты обрабатывались с помощью программного пакета Statistica 6.1. Значения полученных результатов в работе представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней ($M \pm m$), а также доверительного интервала. Сравнение между собой данных проводилось с применением U - критерия Манна - Уитни. Р-значение приняли за 0,05.

Результаты и обсуждение

Количество тромбоцитов у пожилых собак составило $428,55 \pm 16,81$ 109/л, что не выходило за рамки нормативных значений (200 – 500) 109/л, по L. Duncanetal [15] и, хотя было немного выше, но достоверно не отличалось от количества тромбоцитов у

взрослых животных.

Адгезивно - агрегационные свойства тромбоцитов у исследуемых собак старше восьми лет характеризовались следующими показателями: суммирующий индекс агрегации тромбоцитов составил $92,71 \pm 10,14\%$ с АДФ, $106,22 \pm 11,19\%$ с коллагеном, $82,18 \pm 11,54\%$ с ристомидином; скорость агрегации $0,02 \pm 0,006$ минут с АДФ, $0,01 \pm 0,003$ минут с коллагеном, $0,007 \pm 0,002$ минут с ристомидином; индекс дезагрегации $3,00 \pm 1,07\%$ с АДФ, $2,21 \pm 0,76\%$ с коллагеном, $2,71 \pm 0,96\%$ с ристомидином. Причем индекс дезагрегации тромбоцитов с коллагеном у пожилых собак был досто-

верно ниже, чем у взрослых собак.

Низкий индекс дезагрегации под воздействием коллагена является следствием образования более устойчивых тромбоцитарных агрегатов у пожилых собак, чем у взрослых собак ($p = 0,043$).

Так же у пожилых собак процесс образования агрегатов под действием ристомидина происходит за меньшее время, чем у взрослых животных, на что указывает достоверно ($p = 0,015$) более высокая скорость агрегации с ристомидином.

В целом адгезивно-агрегационные свойства тромбоцитов у пожилых собак были выше, чем у взрослых собак (табл. 1).

Таблица 1. Результаты исследования адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов пожилых собак

Показатель	Единицы измерения	Взрослые собаки, n = 20 (M ± m)	Пожилые собаки, n = 12 (M ± m)
Агрегация с АДФ			
СИАТ	%	$81,43 \pm 6,81$	$92,71 \pm 10,14$
СА	мин.	$0,018 \pm 0,003$	$0,02 \pm 0,006$
ИДТ	%	$4,59 \pm 0,89$	$3,00 \pm 1,07$
Агрегация с коллагеном			
СИАТ	%	$85,32 \pm 7,45$	$106,22 \pm 11,19$
СА	мин.	$0,014 \pm 0,002$	$0,01 \pm 0,003$
ИДТ	%	$5,02 \pm 0,94$	$2,21 \pm 0,76^*$
Агрегация с ристомидином			
СИАТ	%	$78,28 \pm 10,12$	$82,18 \pm 11,54$
СА	мин.	$0,016 \pm 0,003$	$0,007 \pm 0,002^*$
ИДТ	%	$5,18 \pm 0,99$	$2,71 \pm 0,96$

* -Различия статистически достоверны ($p \leq 0,05$)

Отсутствие достоверности мы связываем с большой вариабельностью результатов исследования крови пожилых собак, так как возрастные изменения у разных пород собак наступают в разном возрасте, хотя и преимущественно после восьми лет.

В результате исследования плазменно-коагуляционного гемостаза (табл. 2.) у пожилых собак были определены следующие показатели: протромбиновое время, составившее $11,8 \pm 0,49$ секунд, тромбиновое время $11,01 \pm 0,48$ секунд, фибриноген в количестве $2,94 \pm 0,25$ г/л и активированное частичное тромбопластиновое время, составившее $14,04 \pm 0,56$ секунд.

Нами было выявлено достоверное ($p = 0,0009$) повышение количества фибриногена в плазме крови пожилых собак, по

сравнению со взрослыми собаками (рисунок). Подобные изменения белкового состава крови в процессе старения были также установлены у человека [2 - 7].

Отсюда следует закономерное укорочение тромбинового времени ($p = 0,023$), ведь этот тест измеряет скорость превращения фибриногена в фибрин под действием тромбина. При этом скорость образования фибринового сгустка зависит, главным образом, от количества и функциональной полноценности фибриногена и присутствия в крови антикоагулянтов.

Измерение количества РФМК в плазме крови пожилых собак выявило, что в этом возрастном периоде наблюдается максимум их концентрации ($7,30 \pm 0,76$ мг/100мл) против $5,24 \pm 0,37$ мг/100мл у взрослых со-

Таблица 2. Результаты исследования параметров коагуляционного гемостаза, противосвертывающей и фибринолитической системы у пожилых собак.

Показатель	Единицы измерения	Контрольная группа n = 20 (M ± m)	Пожилые собаки n = 12 (M ± m)
Протромбиновое время	сек.	11,05 ± 0,33	11,8± 0,49
Тромбиновое время	сек.	12,7 ± 0,44	11,01± 0,48*
Количество фибриногена	г/л	1,98 ± 0,12	2,94± 0,25*
АЧТВ	сек.	13,8 ± 0,44	14,04± 0,56
Количество РФМК	Мг/100 мл	5,24 ± 0,37	7,30± 0,76*
Активность антитромбина	%	129,62 ± 3,34	127,01± 4,82

* - Различия статистически достоверны ($p \leq 0,05$).

бак ($p = 0,032$).

Высокая концентрация фибриногена в крови пожилых собак, вероятно, способствует также повышенному образованию РФМК.

При этом у исследуемых собак активность естественного антикоагулянта – антитромбина составила $127,01 \pm 4,82\%$, что было ниже, чем у группы взрослых собак, но достоверности эта разница не имела.

Интересно, что при исследовании породных особенностей системы гемостаза у здоровых собак, в группе пожилых животных мы выявили достоверные отличия ($p = 0,047$) у собак породы пудель, которые имели более высокую, чем у остальных пожилых собак, концентрацию фибриногена и РФМК и укороченное тромбиновое время (рисунок).

Концентрация фибриногена у пуделей

Концентрация фибриногена, РФМК и тромбиновое время у пуделей в сравнении с собаками других пород старше восьми лет

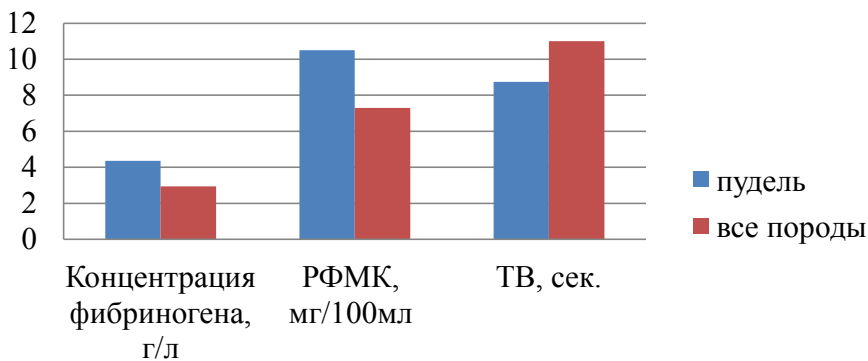


Рисунок. Концентрация фибриногена, РФМК и тромбиновое время у пуделей в сравнении с собаками других пород старше восьми лет.

составила $4,35 \pm 0,15$ г/л против $2,94 \pm 0,25$ г/л, РФМК $10,50 \pm 0,0001$ мг/100мл против $7,30 \pm 0,76$ мг/100мл, ТВ $8,75 \pm 0,25$ сек. против $11,01 \pm 0,48$ сек. у основной группы.

Кроме того, представители породы пудель в нашем исследовании являются долгожителями (14 и 16 лет).

По данным медицинского исследования Magi, у людей – долгожителей наблюдается состояние гиперкоагуляции с высокой активностью прокоагуляционных ферментов, что определено посредством измерения фактора VIIa, или фактора IX, или фактора X в плазме крови. Кроме то-

го, высокий уровень циркулирующих фибринопептидов А свидетельствует о высокой активности тромбина, усиленном образовании фибрина и вторичном высоком гиперфибринолизе, что отражает повышенный уровень D-димера и комплекса плазмин-антиплазмин [7].

Вероятно у собак - должжителей наблюдаются аналогичные физиологические процессы – короткое тромбиновое время свидетельствует о высокой активности тромбина, что, вместе с повышением фибриногена, ведет к усилению образования фибрина. Соответственно, увеличивается и фибринолиз, что проявляется повышением РФМК.

Выводы

1. У пожилых собак старше восьми лет

наблюдается незначительное повышение агрегационных свойств тромбоцитов и эндотелия сосудов, что проявляется повышением скорости агрегации с ристомиицином.

2. При этом достоверно установлено образование более устойчивых агрегатов под действием коллагена, что является следствием понижения активности противосвертывающей системы.

3. В плазме крови собак с возрастом повышается концентрация фибриногена, в связи с этим укорачивается тромбиновое время и увеличивается концентрация РФМК.

4. Повышение свертывающих свойств крови пожилых собак, вместе с понижением противосвертывающей активности, вполне вероятно, может повышать риск гиперкоагуляционных состояний.

Библиографический список:

1. Дронь, А. Н. Физиологические изменения гемостаза в различные возрастные периоды жизни / А.Н. Дронь // Медицинская наука и образование Урала. – 2012. – №3. – С. 123.
2. Кретьова, Е. Ю. Нарушения системы гемостаза в различные возрастные периоды у больных сахарным диабетом: дисс... канд. мед.наук: (14.00.16) / Кретьова Елена Юрьевна. – Т. – 2008. – 146 с.
3. Сафиуллина, С. И. Особенности гемостаза у лиц пожилого возраста при сочетании артериальной гипертензии и злокачественной лимфомы: дисс... канд. мед. наук: (14.00.06) / Сафиуллина Светлана Ильдаровна. – Ижевск, 2006. – 116 с.
4. Abbate, R. Age-related changes in the hemostatic system / R. Abbate, D. Prisco, C. Rostagno, M. Boddi, G. Franco Gensini // Int J Clin Lab Res. – 1993. – №23(1). – P. 1-3.
5. Ariens, R.A. The increase with age of the components of the tissue factor coagulation pathway is gender-dependent / R.A. Ariens, R. Coppola, I. Potenza, P.M. Mannucci // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1995. – №6(5). – P. 433-440.
6. Favaloro, E. Aging Hemostasis: Changes to Laboratory Markers of Hemostasis As We Age-A Narrative / E. Favaloro, M. Franchini, G. Lippi // Seminars in Thrombosis and Hemostasis. – 08/2014 – P. 40-46.
7. Mari, D. Hemostasis and ageing / D. Mari, G. Ogliari, D. Castaldi, G. Vitale, E. M. Bollini, D. Lio // Immunity & Ageing. – 2008. – №5. – P. 12.
8. Bourges-Abella, N.H. Reference intervals, intraindividual and interindividual variability, and reference change values for hematologic variables in laboratory beagles / N.H. Bourges-Abella, T.D. Gury, A. Geffré, D. Concordet, K.C. Thibault-Duprey, A. Dauchy, C. Trumel // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. – 2015. – №54(1). – P. 17-24.
9. Strasser, A. The effect of aging on laboratory values in dogs / A. Strasser, H. Niedermüller, G. Hofecker, G. Laber // Zentralbl. Veterinarmed. A. – 1993. – №40(9-10). – P. 720-730.
10. Lawrence J. Breed-specific hematological phenotypes in the dog: A natural resource for the genetic dissection of hematological parameters in a mammalian species / J. Lawrence, Y. MR. Chang, B. Szladovits, L.J. Davison, O.A. Garden // PLoS ONE. – 2013. – №8(11). – P. 812-888.
11. Swanson, K.S. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs / K. S. Swanson, K.N. Kuzmuk, L.B. Schook, G.C. Fahey // J Anim Sci. – 2004. – 82. – P. 1713-1724.
12. Баруздина Е.С. Некоторые аспекты системы гемостаза у здоровых взрослых собак в условиях Севера Европейской части России / Е.С. Баруздина, Ю.Л. Ошуркова // Международная научно-практическая конференция 14.03.2016 г. Сборник научных трудов. – Стерлитамак: РИЦ АМИ, – 2016. – С. 12-16.
13. Балуда В.П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / В. П. Балуда, З.С. Баркаган, Е.Д. Гольдберг. – Томск, 1980. – 304 с.
14. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свиригин – Москва: ООО Издательство «Трида», 2005. – 223 с.
15. Duncan, L. Handbook of small animal practice: fifth edition/ L. Duncan et al.-USA, Library of Congress Control, 2008. – P. 1270.

References:

1. Dron A.N. Fiziologicheskie izmeneniya gemostaza v razlichnye vozzrastnye periody zhizni [Physiological changes of hemostasis in different age periods of life] / A.N. Dron // Medicinskaya nauka i obrazovanie Urala. – 2012. – #3. – P. 123
2. Kretova E.YU. Narusheniya sistemy gemostaza v razlichnye vozzrastnye periody u bol'nyh saharnym diabetom [Disturbances of the hemostatic system in different age periods in patients with diabetes]: diss... kand. med. nauk: (14.00.16) / Kretova Elena Yur'evna. – T. – 2008. – 146 p.
3. Safiullina S.I. Osobennosti gemostaza u lits pozhilogo vozzrasta pri sochetanii arterial'noy gipertenzii i zlokachestvennoj limfomy [Features hemostasis in elderly people with a combination of hypertension and malignant lymphoma]: diss... kand. med. nauk: (14.00.06) / Safiullina Svetlana Il'darovna. – Izhevsk, 2006. – 116 p.
4. - 11. Vide supra.
12. Baruzhdina E.S. Nekotorye aspekty sistemy gemostaza u zdorovykh vzroslykh sobak v usloviyakh Severa Evropejskoj chasti Rossii [Some aspects

- of hemostasis in healthy adults dogs in the North European part of Russia] / E.S. Baruzdina, Yu.L. Oshurkova // Mezhdunarodnoe nauchnoe periodicheskoe izdanie po itogam mezhdunarodnoj. nauch.- prakt. konf. (14.03.2016 g.). – Sterlitamak: RIC AMI, 2016. – P. 12-16.
13. Baluda V.P. Laboratornyie metody iissledovaniya sistemyi gemostaza [Laboratory methods of research of hemostatic system] / V.P. Baluda, Z.S. Barkagan, E.D. Goldberg. – Tomsk, 1980. – P. 304.
14. Dolgov V.V. Laboratornaya diagnostika narusheni gemostaza [Laboratory diagnosis of disorders of hemostasis] / V.V. Dolgov, P.V. Svirin – Moscow: OOO Izdatelstvo «Triada», 2005. – P. 223.
15. Vide supra.

Baruzdina E.S., Oshurkova U.L.

FEATURES OF HEMOSTASIS SYSTEM IN OLD DOG

Key Words: ahemostasis system, old dogs, hyperfibrinogenemia, hypercoagulation, aggregation, soluble fibrin monomer complex, ristomycin

Abstract: The aim of this study was to examine the functioning of the hemostatic system in healthy old dogs. We studied 12 clinically healthy dogs of different breeds, aged from 8 to 16 years. The results was compared with a group of healthy dogs reproductive age (n = 20). Generally, the adhesive-aggregation properties of platelets in aged dogs was higher than in dogs reproductive age. Also in the old dogs is found the formation of more sustainable aggregates by the action of collagen ($2,21 \pm 0,76\%$), than in dogs of reproductive age ($5,02 \pm 0,94\%$). This paiting is the result of lowering the activity of anticoagulation system with the age. Also marked increase ristomycin aggregation speed ($0,007 \pm 0,002$ min) in old dogs as compared to dogs reproductive age ($0,016 \pm 0,003$ min). The into blood plasma of dogs with age increases the concentration of fibrinogen (from 1.98 ± 0.12 g / l to 2.94 ± 0.25 g / l). In connection with this thrombin time is shortened (from 12.7 ± 0.44 sec. To 11.01 ± 0.48 sec.) And the concentration of soluble fibrin monomer complex is increased (from 7.30 ± 0.76 mg / 100ml to $5,24 \pm 0,37$ mg / 100ml). These features of the hemostatic system in older dogs may possibly increase the risk of hypercoagulable states.

Сведения об авторах:

Баруздина Елена Сергеевна, аспирант Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: 8-921-123-49-03; e-mail: vologda-agility@mail.ru

Ошуркова Юлия Леонидовна, канд. биол. наук, доцент Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н.В. Верещагина; д. 2, ул. Шмидта, с. Молочное, Вологда, Вологодская область, Россия, 160555; тел.: 8-911-511-37-89; e-mail: oshurkovajul@yandex.ru

Author affiliation:

Baruzdina Elena Sergeevna, Post-graduate Student of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; 2, Schmidt str., p. Molochnoe, Vologda region, Russia, 160555; phone: 8-921-123-49-03; e-mail: vologda-agility@mail.ru

Oshurkova Yulia Leonidovna, Ph.D. in Biology, Associate Professor of Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin; 2, Schmidt str., p. Molochnoe, Vologda region, Russia, 160555; phone: 8-911-511-37-89; e-mail: oshurkovajul@yandex.ru