

Przydatność pomiaru białka C-reaktywnego w ocenie natężenia procesu zapalnego w przebiegu torbielowatości jajnika u suki

ANNA WDOWIAK, ADRIANNA DUDZIAK, MAREK SZCZUBIAŁ, ROLAND KUSY, MARIOLA BOCHNIARZ, ANNA ŚMIECH*, ASTA TVARIJONAVICIUTE**, ROMAN DĄBROWSKI

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, *Katedra Anatomii Patologicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-612 Lublin

**Department of Animal Medicine and Faculty of Veterinary Medicine, Regional Campus of International Excellence 'Campus Mare Nostrum', University of Murcia, Campus de Espinardo s/n, 30100 Espinardo, Murcia, Spain

Otrzymano 19.09.2017

Zaakceptowano 13.02.2018

Wdowiak A., Dudziak A., Szczubiał M., Kusy R., Bochniarz M., Śmiech A., Tvarijonaviciute A., Dąbrowski R.

Role of C-reactive protein determination to assay the inflammatory process in the course of ovarian cysts in female dogs

Summary

Searching for new more accurate biomarkers in order to evaluate the health of bitches with reproductive disorders and disturbances has been a subject of inquiry for many researchers. Biomarkers are measurable indicators, the concentrations of which are dependent on the degree and type of stimulus. Serum C-reactive protein (CRP) has been proven to be a valuable biomarker for health status evaluation of bitches suffering from reproductive disorders, such as pyometra, as well as for treatment monitoring. However, no data are available related to the CRP profile in bitches with ovarian cysts for a better evaluation of their condition and prognosis. Thus, the aim of this study was to determine the possible usefulness of CRP determination in the serum of bitches with ovarian cysts. Our results suggest that CRP concentrations could be useful indicators of the presence of ovarian cysts, although studies with more animals are needed.

Keywords: C-reactive protein, ovarian cyst, female dog, serum

Monitorowanie leczenia farmakologicznego, jak również chirurgicznego wielu jednostek chorobowych oraz zaburzeń układu rozrodczego u samic zwierząt towarzyszących opiera się w głównej mierze na podstawie pomiaru ilości leukocytów w surowicy krwi, jednakże z dostępnej literatury wynika, że od kilku lat wielu badaczy coraz częściej podejmuje problematykę oceny natężenia reakcji zapalnej za pomocą pomiaru surowicznych wartości tzw. biomarkerów (3, 4). Biomarkery są bowiem mierzalnymi wskaźnikami, których wartości stężeń zmieniają się w zależności od rodzaju i stopnia zadziałania bodźca inicjującego proces zapalny. Ich oznaczanie jest podstawowym elementem nadzoru stanu zdrowia zwierząt i ma na celu monitorowanie zaburzonej homeostazy wewnętrznej organizmu.

Jednym z często notowanych przypadków w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej, związa-

nych z nieprawidłowym funkcjonowaniem jajników u samic zwierząt domowych, są torbiele (cysty) pęcherzykowe (7, 8, 11). Wiadomo przy tym, że szczególnie znaczenie mają torbiele diagnozowane u suk, ponieważ mogą one być bezpośrednią przyczyną wielu zaburzeń prawidłowego funkcjonowania układu rozrodczego, a niekiedy nawet stanowić podstawę do wyeliminowania samicy z dalszego rozrodu (9, 13).

W przypadku suk za torbiele pęcherzykowe przyjmuje się przetrwałe struktury pęcherzykowe o cienkiej ścianie (11) i średnicy powyżej 8 mm (6, 8, 11, 14), przekraczające objętością dojrzałe pęcherzyki jajnikowe. Do ich rozwoju dochodzi najczęściej w późnej fazie rujowej (poowulacyjnej), w *dioestrus* lub *anoestrus* (5, 6, 8). Cysty pęcherzykowe występują pojedynczo lub w większej liczbie, rozwijając się na jednym lub obydwu jajnikach (6, 8, 11), są wypełnione przejrzystym płynem surowicznym (5, 7, 11), którego ilość może

być różna, w niektórych przypadkach dochodząc nawet do 4 litrów (5, 7, 8).

Torbiele jajnikowe najczęściej występują u suk starszych (7-9, 11), nawet szesnastoletnich (11). Z obserwacji własnych, jak również z danych piśmiennictwa wiadomo, że średnia wieku samic, u których mogą zostać zdiagnozowane to 8 lat (8). Opisywane są również przypadki torbielowatości jajników u osobników młodszych, nawet jednorocznych (1, 7, 8). Wśród ras najczęściej predysponowanych wymienia się m.in.: buldogi angielskie, beagle, malamuty, bouviery flandryjskie, owczarki niemieckie, golden retrievery oraz labradory (11).

Najczęstszą przyczyną powstawania torbieli pęcherzykowych są zaburzenia hormonalne na osi podwzgórze–przysadka–jajnik (1, 7, 8, 11). Wśród przyczyn wymienia się również hipotyroidyzm (1) oraz stosowanie farmakologicznej terapii hormonalnej (7, 11). Wiadomo przy tym, że torbiele pęcherzykowe powstają z pęcherzyków jajnikowych, które nie uległy owulacji (7, 13).

Do najczęściej obserwowanych objawów klinicznych zalicza się przedłużoną ruję (1, 7, 8, 11, 13). Objawy te uzależnione są jednakże od wielkości torbieli na jajnikach oraz ich aktywności hormonalnej (7). Przedłużające się krwawienie z dróg rodnych, trwające do 30 dni, a nawet dłużej (1), towarzyszący temu obrzęk sromu oraz erotyzacja samców (11) zmuszają właściciela do zasięgnięcia porady u lekarza weterynarii. Torbiele pęcherzykowe mające zdolność wydzielania estrogenów, mogą być ponadto bezpośrednią przyczyną zespołu cystowatego rozrostu błony śluzowej macicy (5, 8, 11) i aplazji szpiku kostnego, który może stanowić bezpośrednią przyczynę niedokrwistości (11). Duży rozmiar i masa cyst mogą być przyczyną widocznej asymetrii powłok brzusznych (11), bolesności i dyskomfortu chorej suki (7). Wyłysienia (najczęściej widoczne na bokach ciała, grzbiecie, kroczu i narządach rodnych) (11), zliszajowacenie, hiperkeratoza (11) to kolejne wskaźniki sugerujące obecność torbieli pęcherzykowych na jajnikach.

Rozpoznanie tego zaburzenia hormonalnego opiera się na wywiadzie, objawach klinicznych oraz wynikach badań dodatkowych, takich jak: badania cytologicznego wymazu z pochwy, waginoskopowego oraz określenia surowiczych wartości stężeń hormonów płciowych (7, 11). Ocenę struktury powierzchni jajników dokonuje się poprzez wykonanie badania ultrasonograficznego jamy brzusznej (1, 7, 14). Ostatecznym potwierdzeniem wstępnego rozpoznania jest badanie histopatologiczne wyizolowanego gruczołu płciowego (11).

Pomimo iż problem torbielowatości jajników u suk znany jest od dawna, niewiele jest danych opisujących skuteczne metody farmakologiczne terapii tego zaburzenia. Wiadomo przy tym, że torbiele posiadają zdolność do samoistnej regresji-atrezji lub luteinizacji,

natomiast te utrzymujące się dłużej niż 3 tygodnie wymagają podjęcia skutecznej metody leczenia (1). Z dostępnej literatury oraz obserwacji własnych wiadomo, że we wczesnym stadium rozwoju torbielowatości jajników możliwe jest zastosowanie terapii hormonalnej, która ma na celu wywołanie owulacji u chorej suki (1, 11). Zaleca się podawanie hCG (1, 7, 11, 13) w dawkach 10-20 j.m./kg m.c. lub GnRH (7, 11, 13). Należy w tym miejscu zaznaczyć, iż obecne na polskim rynku preparaty zawierające ww. substancje czynne nie są zarejestrowane dla psów, dlatego też ich aplikacja zwierzęciu powinna być wykonana tylko i wyłącznie na wyraźną prośbę i za zgodą właściciela. Farmakologiczna metoda leczenia nie zawsze przynosi pożądaną efekty. Metodą z wyboru pozostaje nadal zabieg owariohisterektomii, który należy wykonać zwłaszcza przy obecności patologicznych zmian w obrębie ściany macicy, jak również w przypadku braku skuteczności podjętego leczenia zachowawczego (7, 11, 13). Opisywane są również metody terapii chirurgicznej polegającej na śródoperacyjnym przerwaniu ściany torbieli jajnika (13), a także wykonania jednostronnej gonadektomii (11).

W celu uniknięcia niepożądanych następstw torbielowatości jajników (np. zapalenie błony śluzowej macicy, ropomacicze), diagnozowanie tego rodzaju przypadków obliuguje do podjęcia natychmiastowej interwencji lekarsko-weterynaryjnej. Dotychczas ocena stanu zapalnego w rutynowej diagnostyce klinicznej opierała się głównie na określeniu liczby leukocytów we krwi, jednakże badania licznych autorów wykazały, iż w celu oceny natężenia reakcji zapalnej wprowadzenie do codziennej laboratoryjnej diagnostyki klinicznej innych wysoce czułych biomarkerów jest w pełni zasadne i wysoce słuszne (2). W wielu bowiem przypadkach, w przebiegu procesu zapalnego, liczba leukocytów mieści się w granicach norm uznanych za fizjologiczne dla psów, czemu towarzyszą wysokie surowicze wartości białka C-reaktywne (CRP), czego potwierdzeniem są wyniki badań własnych. Białko CRP zaliczane jest od głównych białek ostrej fazy u psów, którego wartości zmieniają się w zależności od stopnia natężenia reakcji zapalnej (2). Warto w tym miejscu zaznaczyć, iż w opisywanym przypadku klinicznym, w celu miarodajnej oceny natężenia procesu zapalnego wykonano oznaczenie wartości białka CRP w surowicy krwi za pomocą aparatu SOLO[®] Analizer (Scils Company, Germany), zwalidowanego dla psów. Białko CRP jest powszechnie opisywane jako czuły wskaźnik oceny natężenia reakcji zapalnej w przebiegu ropomacicza u suk (4), jednakże brak jest danych na temat możliwości jego wykorzystania w laboratoryjnej diagnostyce cyst jajnikowych. Stąd też celem autorów pracy było wykazanie przydatności oznaczania białka CRP w przypadku klinicznym torbielowatości jajnika u suki ze wskazaniem na wykorzystanie nowych metod diagnostycznych w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej.

Opis przypadku

Do Gabinetu Weterynaryjnego „Vera” w Sandomierzu została przyjęta 11-letnia suka rasy owczarek niemiecki o masie ciała 35 kg, BCS 3. Powodem konsultacji była osowiałość, utrzymująca się od ok. 2-3 tygodni. Na podstawie danych uzyskanych z wywiadu ustalono, że suka była apatyczna, traciła apetyt, coraz częściej przyjmowała postawę ulgową, a także wykazywała niechęć do poruszania się. Objawem towarzyszącym i jednocześnie niepokojącym właściciela była niewielka ilość ropnej wydzieliny wydostającej się z dróg rodnych od około 7 dni. Ustalono również, że wcześniejsze cykle rujowe samica przechodziła regularnie i trwały one około 21 dni. Suka urodziła jeden miot, nigdy nie przyjmowała środków antykoncepcyjnych.

W przeprowadzonym badaniu klinicznym stwierdzono dobry stan ogólny pacjentki. Pomiar ciepłoty wewnętrznej ciała wynosił 38,9°C, liczba tętna i oddechów nie odbiegała od norm uznanych za fizjologiczne dla psów. W trakcie oględzin zauważono powiększone powłoki brzuszne. Omacywanie wykazało silną reakcję bólową zwierzęcia, jak również obecność wyczuwalnego tworów w jamie brzusznej tuż za lewym łukiem żebrowym.

Przeprowadzone badanie hematologiczne nie wykazało odstępstw od norm uznanych za fizjologiczne dla tego gatunku, natomiast analiza biochemiczna krwi wykazała znacznie podwyższone wartości fosfatazy zasadowej 454,86 U/l. Pobrano również krew do oznaczenia stężenia białka C-reaktywnego. Analizę stężenia białka CRP wykonano przy użyciu analizatora SOLO® Analyser. Pomiar białka C-reaktywnego w surowicy krwi wynosił 76 mg/dL, co znacznie odbiegało od norm uznanych za fizjologiczne dla psów. Diagnostykę poszerzono o badania poziomu hormonów płciowych, które wykazały następujące wartości: estradiol 34,7 pg/ml, progesteron 11,24 ng/ml.

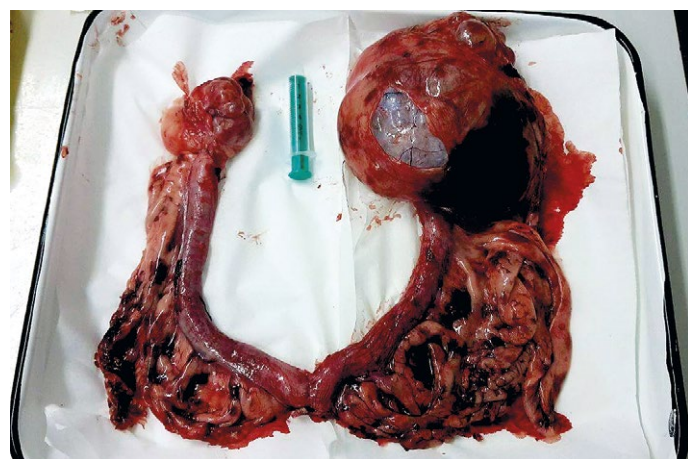
Kolejnym etapem diagnostycznym było wykonanie przeglądowego zdjęcia radiologicznego (RTG) jamy brzusznej i klatki piersiowej, a także badania ultrasonograficznego, które wykazały obecność w strukturze lewego jajnika litego guza o wymiarach 15 × 20 cm, wyraźnie odgraniczony od okolicznych tkanek. W obrębie prawego jajnika zobrazowano natomiast niewielką pojedynczą cystę.

Na podstawie przeprowadzonych badań klinicznych oraz dodatkowych psa zakwalifikowano do zabiegu planowej laparotomii zwiadowczej. Przed przystąpieniem do operacji, na czas 12 godzin przed zabiegiem psa poddano głodówce ze stałym dostępem do wody. Zabieg laparotomii zwiadowczej wykonano w znieczuleniu ogólnym, które uzyskano po zastosowaniu protokołu anestetycznego zgodnego z ogólnie przyjętymi zasadami (premedykacja: metedomidyna (Cepetor® – ScanVet, Poland); indukcja: Propofol (Propofol, Pfizer, 20 mg/ml); utrzymanie narkozy uzyskano przy pomocy Izofluranu 1,5% w 100% O₂).

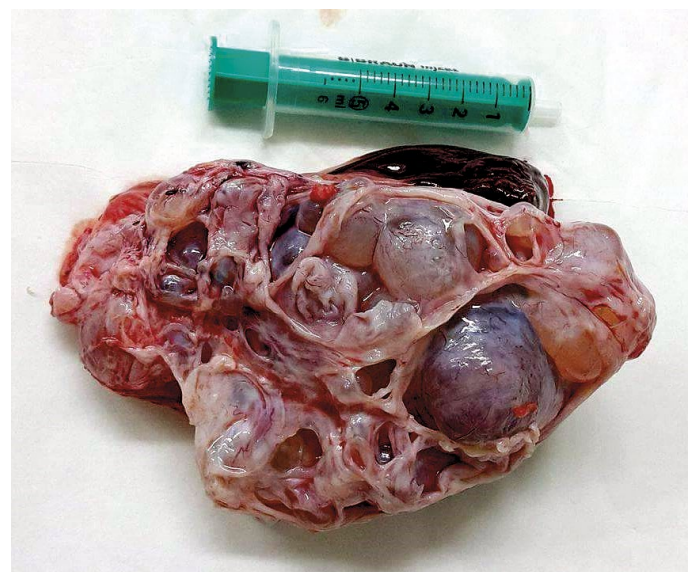
Czas trwania laparotomii wynosił 60 minut i polegał na eksploracji jamy brzusznej, która dała odpowiedź na pytanie co do charakteru i zaawansowania zmian chorobowych jajnika. Z uwagi na odgraniczone struktury chorobowo zmienionego jajnika, co przejawiało się brakiem zrostu z okolicznymi tkankami, postanowiono wykonać zabieg owariohisterektomii.

Wyniki i omówienie

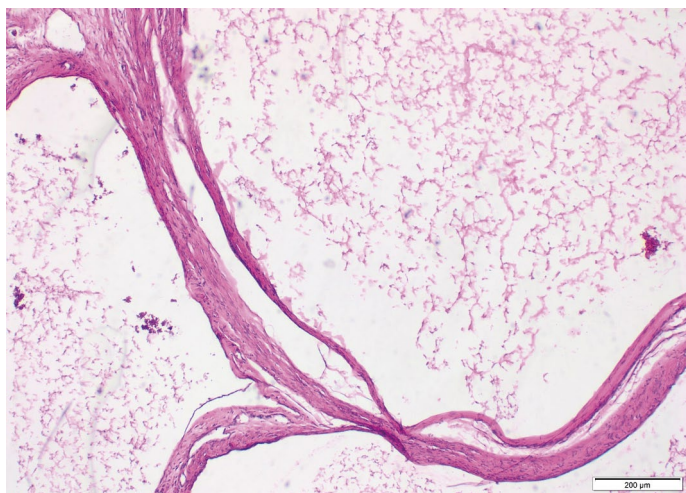
Po otwarciu jamy brzusznej zaobserwowano w niej duże, pobrużdżone struktury wielkości głowy małego dziecka w okolicach lewej nerki. Dalsze postępowanie miało na celu określenie bardziej dokładnej lokalizacji widocznej zmiany oraz jej dostępności. Stwierdzono, iż patologiczna struktura dotyczy lewego jajnika, podczas gdy w strukturze prawego jajnika stwierdzono niewielkiej średnicy pojedyncze torbiele (ryc. 1). Dalsze badanie śródoperacyjne wykazało, że zmieniony chorobowo jajnik, w obrębie którego widoczne były liczne pojedyncze, różnej wielkości cysty, jest wyraźnie odgraniczony od okolicznych tkanek, co umożliwiło jego usunięcie w całości. Kolejnym etapem operacji było usunięcie drugiego jajnika oraz macicy. Wyizolowany jajnik wraz z macicą (ryc. 1, ryc. 2) przesłano do badania histopatologicznego, które wykonano w Katedrze Anatomii Patologicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie. W obrazie mikroskopowym wycinków jajnika stwierdzono obec-



Ryc. 1. Jajnik wyizolowany wraz z macicą od suki. Widoczny powiększony lewy jajnik oraz pojedyncze cysty w jajniku prawym



Ryc. 2. Wyizolowany jajnik od suki. Widoczna policystowatość struktury jajnika



Ryc. 3. Wielotorbielowatość jajnika. Widoczne torbiele wypełnione płynem surowiczym. Barw. HE, pow. ok. 40 ×

ność mnogich torbieli pęcherzykowych, wskazujących na wielotorbielowatość jajników (ryc. 3). Badanie mikroskopowe ściany macicy wykazało obecność nacieków zapalnych złożonych z granulocytów obojętnochłonnych, obejmujących błonę śluzową i gruczoły maciczne oraz ogniska przekrwienia.

W trakcie wykonywanego zabiegu oraz po jego zakończeniu suka otrzymywała płyny infuzyjne (PWE, Sol. Ringeri, Glukoza 5%) we wlewie dożylnym, w dawce przeznaczony dla tego gatunku zwierząt. Bezpośrednio po zabiegu podano osłonę antybiotykową o szerokim spektrum działania (prep. Betamox w dawce 1 ml/10 m.c. s.c.). Po wybudzeniu samicy i kilkugodzinnej obserwacji klinicznej pacjentka została wydana właścicielowi. Chętnie piła wodę, częstość i ilość oddawanego moczu były charakterystyczne dla tego gatunku zwierząt. Dzień po zabiegu zaczęła także przyjmować pokarm. W kolejnych dniach sukę codziennie poddawano badaniu klinicznemu oraz laboratoryjnym badaniom dodatkowym, polegającym na pomiarze białka CRP oraz liczby leukocytów. Badania te wykazały iż 3. dnia po zabiegu stężenie CRP wynosiło 80 mg/dL w surowicy krwi, a 10. dnia już tylko 27 mg/dL. Liczba leukocytów trzeciego dnia po zabiegu wynosiła 22.000×10^9 , a dziesiątego dnia wartość ta mieściła się w granicach norm uznanych za fizjologiczne dla psów. Szwy skórne usunięto dziesiątego dnia po zabiegu. Rana pooperacyjna zagoiła się poprzez rychłozrost.

Obserwowany w badaniu ultrasonograficznym oraz radiologicznym obraz chorobowo zmienionego jajnika nie pozwalał na postawienie jednoznacznego rozpoznania. Według danych piśmiennictwa, występowanie półpłynnej zawartości w świetle nieregularnej zmiany, otoczonej hiperechogeniczną torebką i obszarami o zróżnicowanej echogeniczności sąsiadujących tkanek, może być odnotowywane zarówno w przypadku nowotworu jajnika np. GCT, jak również cystowatości jajników (12). Opisany zabieg chirurgicznego usunięcia torbielowato zmienionych jajników wraz z macicą

u suki okazał się wystarczający, jako metoda leczenia z wyboru, przywracająca zwierzęciu optymalny poziom funkcjonowania fizjologicznego. Oznaczenie poziomu białka C-reaktywnego w surowicy krwi za pomocą aparatu SOLO[®] Analityzer wniosło dodatkowy i bardzo ważny laboratoryjny element diagnostyczny. Wysokie jego stężenie przy fizjologicznych poziomach leukocytów we krwi przed zabiegiem niewątpliwie świadczyło o toczącym się procesie zapalnym w obrębie chorobowo zmienionego jajnika. Dodatkowo, mogło być również wynikiem toczącego się miejscowego procesu zapalnego w macicy. Wiadomo bowiem, że długotrwałe oddziaływanie estrogenów może być przyczyną nieodwracalnych zmian w obrębie endometrium, prowadzących w konsekwencji do rozwoju CEH. Kolejne oznaczenie CRP, które wykonano 3. dnia po zabiegu wykazało jeszcze wyższe jego stężenie w porównaniu do wartości przed zabiegiem, co wynikało z przerwania ciągłości tkanek na skutek przeprowadzonej laparotomii zwiadowczej. Dziesiątego dnia po zabiegu zanotowano malejące wartości białka C-reaktywnego. Świadczyło to o powolnym wygasaniu i ustępowaniu procesu zapalnego, czego potwierdzeniem są wyniki badań również innych autorów, którzy oznaczali poziomy białka C-reaktywnego w okresie pooperacyjnym (10). Z danych literaturowych wiadomo bowiem, że oznaczenie białka CRP we krwi stanowi dosyć łatwy, a z drugiej strony – bardzo wiarygodny element laboratoryjnej diagnostyki klinicznej, przydatny w ocenie natężenia reakcji zapalnej (2). Jedyną trudnością w jego oznaczaniu może okazać się brak odpowiedniej aparatury laboratoryjnej. Dotychczas oznaczenie białka CRP u psów możliwe było tylko za pomocą komercyjnych testów ELISA. Wymagało to jednak zebrania dużej ilości materiału, jakim była surowica uzyskana od psów, bez możliwości określenia pojedynczej wartości omawianego wskaźnika. Wprowadzenie na rynek weterynaryjny aparatu umożliwiającego określenie surowiczej wartości białka ostrej fazy, jakim jest białko CRP, okazuje się zatem wysoce słuszne i w pełni zasadne, zwłaszcza w przypadku braku wyraźnych klinicznych objawów choroby oraz obecności fizjologicznych wartości krwinek białych.

W opisanym przypadku ocena nasilenia reakcji zapalnej, prawdopodobnie wywołanej estrogenozależną stymulacją endometrium, okazała się trafna i precyzyjna poprzez analizę pomiaru białka C-reaktywnego. Metoda ta wydaje się wysoce czuła i powoli zastępuje stosowany od lat pomiar ilości leukocytów oraz szybkości opadania krwinek czerwonych (odczyn Biernackiego – OB). Oznaczenie CRP stanowi doskonałe uzupełnienie innych dodatkowych badań krwi i pozwala trafnie ocenić stan pacjenta, ułatwić postawienie rokowania oraz lepiej przygotować pacjenta do zabiegu. Zdaniem autorów, analiza pomiaru białka CRP powinna zająć stałe miejsce w codziennej laboratoryjnej diagnostyce weterynaryjnej.

Piśmiennictwo

1. *Bobowiec R., Kosior-Korzecka U.*: Torbiele pęcherzykowe u samic różnych gatunków. Cz. II. Mag. Wet. 2008, 17, 1254-1257.
2. *Dąbrowski R., Wawron W.*: Acute phase response in monitoring postoperative recovery in bitches after ovariectomy. Ann. Anim. Sci. 2014, 2, 287-295.
3. *Jitpean S., Pettersson A., Höglun O. V., Ström Holst B., Olsson U., Hagman R.*: Increased concentrations of Serum amyloid A in dogs with sepsis by pyometra. BMV. Vet. 2014, 10, 273.
4. *Jitpean S., Ström Holst B., Höglun O. V., Pettersson A., Olsson U., Strage E., Södersten F., Hagman R.*: Serum Insulin-like growth factor-I, iron, C-reactive protein, and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. Theriogenology 2014, 82, 43-48.
5. *Johnson S. D., Root Kustritz M. V., Olson P. N.*: Canine and feline theriogenology. W. B. Saunders Company. Philadelphia 2001, s. 194.
6. *Knauf Y., Bostedt H., Failing K.*: Gross pathology and endocrinology of ovarian cysts in bitches. Reprod. Domest. Anim. 2014, 49, 463-468.
7. *Max A.*: Torbiele jajnikowe u suk i kotek. Mag. Wet. 2015, 07-08, 549-554.
8. *Max A., Krzyżewska A.*: Współistnienie ciąży i torbieli jajnika u suk. Mag. Wet. 2009, 18, 687-688.
9. *Max A., Lenartowicz Z.*: Przypadek wielotorbielowatego zwyrodnienia jajników u szczennej suk. Med. Weter. 1985, 41, 173-174.
10. *Medeiros I. L., Terra R. M., Choi E. M., Pego-Fernandes P. M., Jatene F. B.*: Evaluation of serial C-reactive protein measurements after surgical treatment of pleural empyema. Clinics (Sao Paulo) 2012, 67, 243-247.
11. *Mikolajewska N., Niżański W., Stańczyk E., Twardoń J.*: Cysty jajnikowe u suk. Metody rozpoznawania i leczenia. Weterynaria w Praktyce 2010, 07, 07-08, 52-54.
12. *Nyland T. G., Mattoon J. S.*: Small animal diagnostic ultrasound. W. B. Saunders, New York 2002.
13. *Purcell B. J., Parker N. A.*: Rozpoznawanie i leczenie niepłodności u suk. Weterynaria po Dyplomie 2001, 02, 3, 25.
14. *Stańczyk E., Twardoń J., Antończyk A., Gotowiecka M., Mikolajewska N., Dzieciol M., Niżański W.*: Badanie ultrasonograficzne narządu płciowego suk i kotki. Weterynaria w Praktyce 2012, 09, 05.

**Adres autora: dr hab. Roman Dąbrowski, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin;
e-mail: roman.dabrowski@up.lublin.pl**