

У собак з діагнозом «гепатит», спостерігається підвищення концентрації продуктів ПОЛ, що характеризує посилення процесів перекисного і вільнорадикального окислення. Концентрація антиоксидантів знижується, що вказує на зниження антиоксидантного захисту організму (Poldervaart, J.H. et al. 2009; Speeti, 2014).

У собак з патологією печінки досить часто порушується кровотворення: розвиваються різні форми анемії та зміни еритроцитів (мікроцитоз, пойкилоцитоз) (Ber-shadskyi, 1996; Soloviova, 2012; Dykyi et al., 2000).

Середній вміст гемоглобіну (абсолютна маса всіх гемоглобінових молекул) в одному еритроциті опосередковано характеризує особливості функціонування внутрішніх систем, які відповідають за синтез гемоглобіну, а також за нормальне утворення еритроцитів (Lokes-Krupka et al., 2022; Soloviova et al., 2001; Weiss & Wardrop, 2010).

Враховуючи роль печінки у еритроцитопоезі, в останні роки приділяють особливу увагу вивченню структурно-функціональних властивостей клітинних та субклітинних мембран у нормі та при різних патологіях. Найбільш зручним матеріалом для досліджень є мембрани еритроцитів у зв'язку з простотою їх виділення та високою інформативністю отриманих при їх дослідженні результатів.

В літературних джерелах є повідомлення про особливості еритроцитопоезу та метаболізму в еритроїдних клітинах свиней у неонатальний період, описані пул еритроїдних клітин кісткового мозку при інфекційній патології (Ber-shadskyi, 1996), ліпідний склад і властивості мембран еритроцитів при D-гіповітамінозі у щурів, а також дітей (Lemeshchenko, 1999; Bluck & Blacklock, 1992), перекисне окислення ліпідів і функціональний стан еритроцитів великої рогатої худоби при лейкозі, анемії, бронхопневмонії (Rozumniuk, 2002; Moskalenko, 1999), однак відсутня інформація про структурно-функціональні властивості еритроцитів периферичної крові у клінічно здорових собак та їх зміни у хворих на гепатодистрофію.

Вивчення цього питання в Україні проводиться вперше, від чого дослідження, з нашої точки зору, набувають ще більшої актуальності.

Метою нашої роботи було вивчити стан еритроцитопоезу у собак за експериментально викликаного гепатодистрофії: кислотну стійкість та популяційний склад еритроцитів у крові клінічно здорових собак до та після інтоксикації залежно від тяжкості клінічного перебігу.

Матеріали і методи досліджень. Роботу виконували на факультеті ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ в НДІ внутрішніх хвороб тварин. Матеріалом для досліджень були 10 безпорідних собак, у яких викликали гостру печінкову недостатність. Для цього їм за допомогою зонда для дрібних тварин перорально вводили тетрахлориду карбон (CCl_4). 50 %-ну емульсію задавали в дозі 0,3 мл/кг, 0,5 та 1 мл/кг маси тварин з інтервалом 6 днів.

Після клінічного обстеження тварин проводили лабораторне дослідження крові. У крові визначали кількість еритроцитів (меланжерним методом), вміст гемоглобіну

(гемоглобінціанідним методом), величину гематокриту (мікроцентрифугуванням за Шклярем), кислотну стійкість (за Гітельзоном І.І., Терськовим І.А.) та популяційний склад еритроцитів (за Сизовою І. зі співавт., 1985).

Результати досліджень

Визначення кислотної резистентності еритроцитів у собак

Принцип методу дослідження дисперсії еритроцитів на стійкість (метод еритрограм) полягає в фотоелектричній реєстрації зменшення кількості еритроцитів у процесі гемолізу, який розвивається під дією гемолітика в стабільних умовах. Стійкість еритроцитів визначають за часом виходу гемоглобіну з клітини. Час, необхідний для гемолізу еритроцитів, залежить від часу, необхідного для подолання гемолітиком бар'єра мембранної непроникності, швидкості руйнування внутрішньоклітинних структур та часу, протягом якого механічна міцність мембрани протистоїть наростаючому осмотичному тиску всередині клітини.

Дослідження показали, що кислотна еритрограма, побудована на визначенні розподілу по стійкості еритроцитів периферичної крові, відображає стан системи крові і реагує закономірними змінами на вихід цієї системи з рівноваги. Зміни кислотної резистентності еритроцитів не залежать від їх форми, об'єму, діаметру, вмісту в них гемоглобіну. Вміст і цілісність поверхнево-активних білків мембрани еритроцитів не впливають на їх положення на еритрограмі. Кислотна еритрограма у більшості випадків демонструє зв'язок між стійкістю і віковим складом еритроцитів.

Протягом всього життя еритроцита у судинному руслі його стійкість зменшується з віком. Найбільш молоді, що вийшли із кісткового мозку еритроцити, мають найбільшу стійкість і займають в еритрограмі крайнє праве положення. Циркуючи в руслі, еритроцити дозрівають і в подальшому старіють. Ці процеси супроводжуються збідненням мембрани ліпопротеїдами, зниженням сульфгідрильної і пероксидазної активності протоплазми еритроцита, що на еритрограмі відображається зміщенням вліво.

Метод кислотних еритрограм дозволяє виявити ряд важливих деталей регулювання в системі червоної крові, які неможливо виявити при вивченні тільки кількісних показників.

У проаналізованій нами літературі відсутні дані про методичні підходи до визначення кислотної резистентності еритроцитів собак.

Перший етап наших досліджень полягав у правильному підборі концентрації гемолітика і дотриманні стабільних умов гемолізу, оскільки ці умови для еритроцитів людей і тварин різного віку та виду відрізняються. Кров для досліджень відбирали у центрифужні пробірки, куди попередньо додавали гепарин з розрахунку 100 МО на 10 мл крові. Плазму відділяли шляхом центрифугування (1500 об/хв, 20 хв). Суспензію еритроцитів тричі відмивали охолодженням до 4 °С (для запобігання окислення ліпопротеїдів) 0,85 %-ним розчином натрію хлориду з наступним центрифугуванням при тих же умовах. Чітке їх дотримання дозволяє отримати однакову щільність

суспензії еритроцитів і їх кількість в одиниці відібраного для дослідження об'єму залишається стабільною в усіх пробах. Для більшої зручності суспензію еритроцитів відбирали капіляром від гемометра Салі і переносили у пробірку, куди попередньо додавали 10 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. Капіляр промивали у верхньому шарі розчину, вміст пробірки ретельно перемішували.

Вимірювання оптичної щільності розчинів проводили на КФК-3 при довжині хвилі 540 нм (кувета 10 мм) проти контролю (0,85 %-ний розчин натрію хлориду). Перед дослідженнями в обидві кювети на 5–10 хв вносили розчин гемолітика з досліджуваною концентрацією. Після цього вміст дослідної кювети виливали і вносили 2 мл розчину гемолітика та додавали 2 мл 0,2 %-ної суспензії еритроцитів. Для скорочення часу перемішування гемолітика з суспензією еритроцитів проводили механічне перемішування рідин кінчиком піпетки. Зміни екстинції записували одразу після перемішування розчинів через кожні 30 с до постійного показника. Незначне зростання екстинції після двох однакових показників відбувається за рахунок утворення солянокислого гематину і свідчить про повний гемоліз еритроцитів.

Різницю між початковою і кінцевою (по закінченню гемолізу) оптичною щільністю приймали за 100 % і вираховували процент ΔE , який відображає відносний уміст (у %) негемолізованих еритроцитів через кожні 30 с. За такого розрахунку виключається залежність результатів від числа еритроцитів і концентрації гемоглобіну. Отримані дані зображували графічно.

Підбір концентрації гемолітика (HCl) розпочинали з 0,004 N концентрації, яку застосовують при дослідженні кислотної резистентності еритроцитів у новонароджених дітей. Дослідження показали, що така концентрація гемолітика є великою для еритроцитів собак, оскільки повний гемоліз наставав уже за 1,5 хв, що не дає можливості простежити гемоліз різних за віком еритроцитів (рис. 1).

Тому нами випробувані різні концентрації гемолітика. Для прикладу наводимо графічне зображення кислот-

ного гемолізу еритроцитів, спричиненого дією 0,00125 N розчину соляної кислоти в ізотонічному розчині NaCl. Дія гемолітика з такою концентрацією є вже не такою сильною, як дія 0,004 N HCl. Ліва частина еритрограми має більш розтягнений вигляд, проте права її частина свідчить про швидке руйнування клітин, що за таких обставин не дає можливості досліджувати молоді популяції еритроцитів.

Встановлено, що найбільш сприятливий за подовженістю гемоліз еритроцитів собак відбувається при дії на них 0,00015 N розчину HCl в ізотонічному розчині натрію хлориду (для порівняння варто зазначити, що для еритроцитів дітей оптимальними є 0,004 N р-н HCl та 0,15 %-на суспензія еритроцитів).

Використання гемолітика з 0,00015 N концентрацією HCl дозволяє більш чітко відображати на еритрограмі віковий склад еритроцитів, оскільки вона має добре виражену ліву частину (яка є результатом гемолізу більш старих клітин), пік еритрограми (який утворюють менш старі та зрілі еритроцити) та праву частину (утворену гемолізом більш молодих популяцій еритроцитів). Тому в усіх подальших дослідженнях у якості контролю використовували 0,00015 N розчин HCl в ізотонічному розчині NaCl.

Така конфігурація еритрограми є закономірною, оскільки фракціонування еритроцитів у градієнті густини сахарози показала, що їх популяції становлять: «молоді» – $69,1 \pm 1,0$; «зрілі» – $24,5 \pm 0,84$ та «старі» – $6,4 \pm 0,4$ %.

Стан еритроцитопоезу у клінічно здорових та хворих на гепатоз собак

На другому етапі роботи визначали зміни кислотної резистентності та популяційного складу еритроцитів після задавання всередину собакам різних доз тетрахлориду карбону. Після введення CCl_4 у дозі 0,3 мл/кг у собак спостерігали незначне пригнічення загального стану та зниження апетиту. Субфебрильне підвищення температури тіла (на 0,1–0,3 °C) супрово-

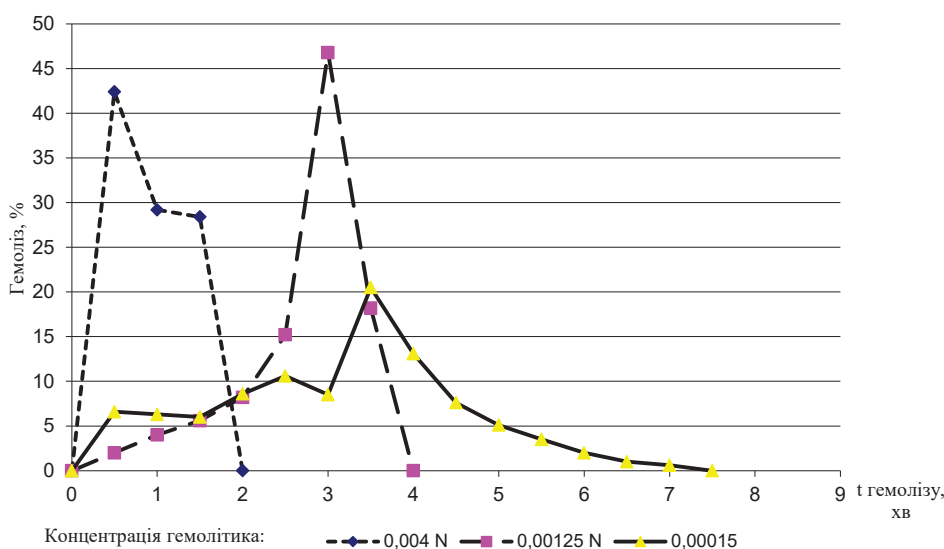


Рис. 1. Час гемолізу еритроцитів собак, залежно від концентрації гемолітика

джувалося незначною тахікардією і тахіпноє. Кон'юнктива набувала блідо-синього відтінку. При пальпації болючість печінки не виявляли. При перкусії печінкове притуплення реєструвалося з правого боку з 10-го до 13-го ребра, зліва – по 12-те ребро, що вказувало на відсутність гепатомегалії.

Результати наших досліджень показали, що у клінічно здорових собак кількість еритроцитів становила в середньому $6,53 \pm 0,1$ Т/л з коливаннями від 5,92 до 6,74 Т/л. Величина гематокриту – $44,3 \pm 0,9$ % (41,9–45,3 %), концентрація гемоглобіну – $173,8 \pm 3,9$ г/л (168,5–176,3 г/л) (табл. 1).

Аналіз кислотної стійкості еритроцитів собак, спричинений 0,00015 N розчином HCl у 0,85 %-му розчині NaCl показав, що еритрограма має чітко виражені ліву і праву частини з висотою основного піка 21,0 % та тривалістю гемолізу 7,5 хвилин (рис. 2).

Зміни кислотної резистентності еритроцитів при таких змінах у печінці були несуттєвими і не мали вірогідної різниці з цим показником до введення CCl_4 .

Популяційний склад еритроцитів периферичної крові також не мав вірогідних змін (табл. 2).

Наступні дози тетрахлориду карбону викликали у тварин зниження апетиту, гіпертермію на $0,5$ °С, подальше підвищення частоти пульсу і дихання. Слизова ока набувала ціанотичності. При пальпації та перкусії печінки виявляли гепатомегалію (задній край печінки виходить за останнє ребро на $0,5$ см). Ділянка перкусії печінки ставала болючою.

Уміст гемоглобіну при гепатодистрофії був зменшений на 13,8 %, гематокритна величина зменшена на 4,3. При аналізі вмісту гемоглобіну в одному еритроциті змін при гепатодистрофії не спостерігали (табл. 3).

Проте, кількість еритроцитів мала лише тенденцію до зменшення.

Отже, визначення лише цих показників еритроцитопоезу не дозволяє зробити остаточний висновок про стан еритрона у собак при гепатозі. Саме тому нами була вивчена кислотна резистентність еритроцитів.

З розвитком гепатозу змінювалася і еритрограма. Повний гемоліз еритроцитів наставав на шостій хвилині. Висота основного піку гемолізу була на 3 % більшою і становила 24 % на третій з половиною хвилині, порівняно з початком досліджу (рис. 3).

Таблиця 1

Показники гемопоезу в собак дослідної групи, $M \pm m$

Показник	До досліджу	Після введення CCl_4 у дозі 0,3 мл/кг
Еритроцити, Т/л $p <$	$6,5 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,2$ 0,1
Гемоглобін, г/л $p <$	$173,8 \pm 3,9$	$168,1 \pm 1,9$ 0,1
Гематокрит, у проц. $p <$	$44,3 \pm 0,9$	$44,2 \pm 1,0$ 0,1

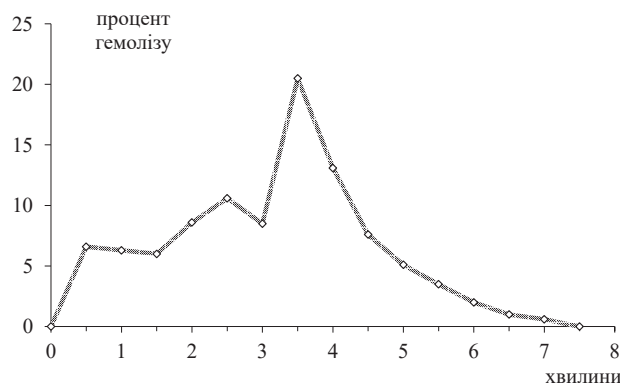


Рис. 2. Кислотна стійкість еритроцитів до токсикозу

Таблиця 2

Популяції еритроцитів периферичної крові собак, у процентах

Час дослідження	Популяції еритроцитів		
	«старі»	«зрілі»	«молоді»
До введення CCl_4	$6,4 \pm 0,4$	$24,5 \pm 0,8$	$69,1 \pm 1,0$
Після введення CCl_4 у дозі 0,3 мл/кг	$7,3 \pm 0,6$	$25,3 \pm 1,1$	$67,4 \pm 1,6$
$p <$	0,1	0,1	0,1

Показники гемопоезу в собак дослідної групи, $M \pm m$

Показник	До дослідю	Після введення CCl_4 у дозі	
		0,5 мл/кг	1,0 мл/кг
Еритроцити, Т/л $p <$	$6,53 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,2$ 0,1	$5,65 \pm 0,5$ 0,1
Гемоглобін, г/л $p <$	$73,81 \pm 3,9$	$66,67 \pm 1,7$ 0,1	$144,4 \pm 1,8$ 0,001
Гематокрит, у проц. $P <$	$44,3 \pm 0,9$	$44,7 \pm 0,7$ 0,1	$39,2 \pm 1,2$ 0,01

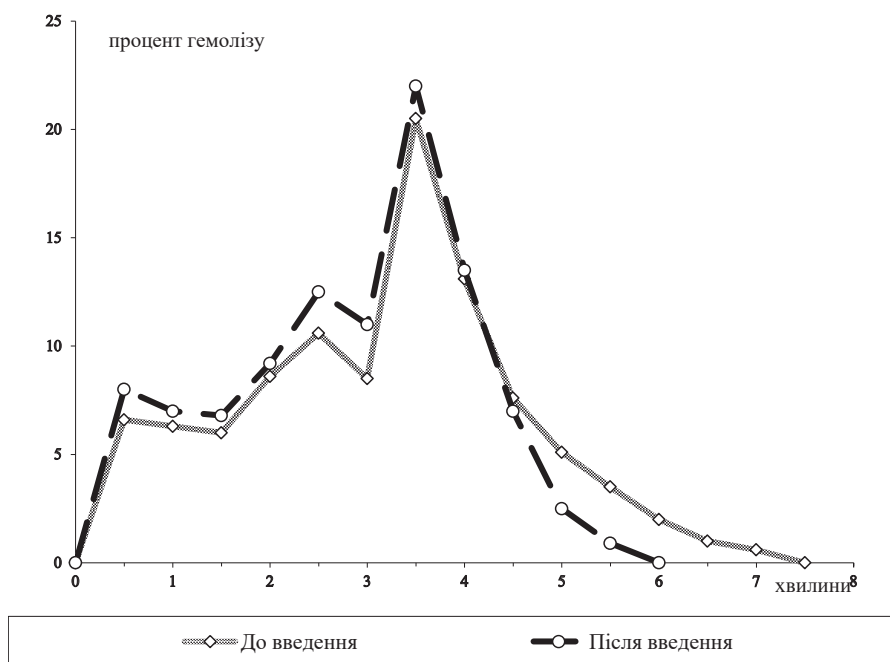


Рис. 3. Кислотна стійкість еритроцитів до та після токсикозу

Така різниця у формі еритрограм до та після отруєння CCl_4 вказує на зменшення кількості «молодих» еритроцитів (табл. 4).

Так, після введення CCl_4 у дозі 1,0 мл/кг маси популяції «молодих» еритроцитів зменшилися на 12,0 %, порівняно з клінічно здоровими собаками, за рахунок збільшення «зрілих» – на 8,4 % та «старих» – на 3,6 %.

Обговорення. Отже, експериментально викликана гепатодистрофія в собак спричинює зміни у периферичній крові. Чим сильніше проявляється гепатоз, тим ці зміни стають яскравішими (вірогідно зменшується концентрація гемоглобіну та величина гематокриту). У кров'яне русло перестають надходити «молоді» еритроцити, про що свідчать зміни в еритрограмах та популяційному складі еритроцитів периферичної крові.

Результати наших досліджень показали, що печінка має великі компенсаторні можливості й здатна тривалий час підтримувати гомеостаз і, незважаючи на пошкодження, мінімізувати процеси катаболізму. Застосування тетрахлориду карбону (CCl_4) в дозі 0,3 мл/кг маси тварин не спричиняє гепатомегалії та болючості печінки, а лише незначно пригнічує загальний стан, знижує апетит і супроводжується розвитком незначної тахікардії й тахіпноє (Soloviova, 2002).

Очевидно, що зміни в структурі гепатоцитів не є настільки значними, щоб спричинити зміни у периферичній крові, оскільки зміни популяційного складу та їхня кислотна стійкість не набувають вірогідних значень.

Наступні дози відтворення токсикозу спричиняють більш глибокі зміни у гепатоцитах. При тривалому перебігу гепатодистрофії з більш значними порушеннями функцій печінки настають зміни і в картині червоної крові (O'Kell et al., 2022; Soloviova et al., 2022; Rozumniuk, 2002; (Moskalenko, 1999).

Зменшення або повне припинення надходження у кров, а потім і в червоний кістковий мозок речовин, необхідних для синтезу мембран еритроцитів та гемоглобіну, спричиняють уповільнення процесів еритроцитопоезу. Підтвердженням цього є результат фракціонування еритроцитів периферичної крові у градієнті густини сахарози. Тахікардія разом із тахіпноє збільшує кількість рециркуляції і оксигенації еритроцитів, що, у свою чергу, прискорює «старіння» клітин.

Кислотна резистентність еритроцитів тісно пов'язана і, здебільшого, відображає популяційний склад «червоних» кров'яних клітин. Вірогідне зростання кількості «зрілих» та «старих» еритроцитів при зменшенні популяції «молодих» клітин у крові собак спричиняють зміщення

Популяції еритроцитів периферичної крові собак, у процентах

Час дослідження	Популяції еритроцитів		
	«старі»	«зрілі»	«молоді»
До введення CCl_4	6,4±0,35	24,5±0,84	69,1±1,0
Після введення CCl_4 у дозі 0,5 мл/кг $p <$	7,1±0,58 0,1	29,6±2,2 0,1	63,3±2,3 0,1
Після введення CCl_4 у дозі 1,0 мл/кг $p <$ $p^* <$	10,0±0,7 0,1 0,01	32,9±2,4 0,1 0,001	57,1±2,7 0,1 0,05

Примітки: $p <$ – порівняно з попереднім показником

$p^* <$ – порівняно з клінічно здоровими собаками.

основного піку вліво, а також зменшення часу гемолізу еритроцитів. Зростання популяцій «молодих» та зменшення «старих» і «зрілих» клітин відображається на еритрограмі зростанням висоти основного піку, подовженням часу гемолізу еритроцитів.

Отримані нами дані про зміни форми еритрограм залежно від популяційного складу еритроцитів крові у собак співпадають з даними про відповідну залежність, виявлену в людей, телят та кролів.

Так, деякі автори виявили, що популяційний склад еритроцитів у телят протягом першого місяця життя нестабільний. У триденних телят частка «старих» еритроцитів становить 10,0±0,74 %, «зрілих» – 32,9±2,43, «молодих» – 57,1±2,7 % (Moskalenko, 1999). У 6-денних телят кількість «старих» еритроцитів зменшувалася ($p < 0,01$), спостерігається тенденція до зменшення популяції «зрілих» та збільшення «молодих» еритроцитів, яка поступово наростала і різниця з триденними телятами ставала вірогідною у 20–30-денному віці (Moskalenko, 1999).

Віковий склад еритроцитів крові суттєво впливає, за даними авторів, на характер кислотних еритрограм, оптимальні форму яких можна отримати при використанні 0,00005N розчину соляної кислоти в ізотонічному розчині натрію хлориду. Еритрограми мали один або два (у триденному віці) основні піки, висота яких зростала від 10,1±0,9 % у триденних до 14±0,63 % – у місячних телят, та один або два додаткових, форма яких залежить від частки «старих» еритроцитів. Розтягнутість правої частини еритрограми значною мірою залежить від кількості «молодих» еритроцитів (Rozumniuk, 2002; Moskalenko, 1999).

Еритрограми телят з ознаками анемії характеризувалися, за даними авторів, тривалішим часом гемолізу, більш розтягнутою правою частиною, що спричинене зростанням кількості «молодих» високостійких клітин у кров'яному руслі, та меншою висотою виходу основного піка, порівняно з еритрограмами клінічно здорових телят. Подвійне (у шестиденних) та потрійне (у 30-денних) роздвоєння основного піка еритрограми свідчить про наявність у кров'яному руслі хворих телят еритроцитів з різними властивостями. Еритрограма 10-денних телят характерна для гіпорегенеративного стану еритроцитів, 20-денних телят – регенеративного, а 30-денних – для гіперрегенеративної реакції кісткового мозку (Moskalenko, 1999).

Форма еритрограми, отримана нами у собак, хворих на гепатодистрофію, дає можливість припустити, що при цьому захворюванні у тварин розвивається анемічний стан полі етіологічного походження, оскільки в печінці відкладаються запаси вітамінів, зокрема B_{12} , і мінералів (Co, Zn, Cu, Fe), необхідних для ефективного еритроцитопоезу.

Участь ціанокобаламіну у кровоутворенні заключається, перш за все, в тому, що він сприяє перетворенню 5, 10–метилентетрагідрофолієвої кислоти у тетрагідрофолієву, яка необхідна для нормального еритроцитопоезу (Neo et al., 2022; Moskalenko, 1999).

Синтез вітаміну B_{12} мікрофлорою залежить від ступеню надходження кобальту та активності самих мікроорганізмів. При хронічному гастриті, хронічному ентероколіті, при хворобах печінки – гепатозі, гепатиті, цирозі порушується синтез гастромукопротеїну, що призводить до розвитку ендogenous B_{12} – гіповітамінозу. Окрім того, при патології печінки гепатоцити не в змозі засвоювати і депонувати екзогенний вітамін B_{12} , що також призводить до розвитку анемічного стану (Lucina et al., 2021; Michael et al., 2021; Moskalenko, 1999).

Уміст гемоглобіну при гепатодистрофії в наших дослідженнях був зменшений на 13,8 %, гематокритна величина зменшена на 4,3. При аналізі вмісту гемоглобіну в одному еритроциті змін при гепатодистрофії не спостерігали.

Проте із наведених результатів загального клінічного аналізу крові для диференціальної діагностики можна використати лише уміст гемоглобіну. На те, що аналіз показників еритроцитопоезу не має особливого значення в диференційній діагностиці вказують і дані інших дослідників (Timoshenko et al., 2021; Levchenko et al., 2019; Wilkinson et al., 2022; Rahman et al., 2021; Saunders, 2021; Pena-Ramos et al., 2021; Pereira Dos Santos et al., 2019).

При дослідженні стану гемопоезу деякі автори виявили, що вміст гемоглобіну в крові хворих на гепатит собак був достовірно ($p < 0,05$) знижений і становив $148,7 \pm 10,70$ г/л, що співпадає з результатами наших досліджень. Кількість еритроцитів була незначно підвищена $8,6 \pm 0,42$ Т/л. (Halatiuk et al., 2019).

Висновки.

1. Для визначення кислотної резистентності еритроцитів периферичної крові у собак найбільш оптималь-

ним є 0,00015 N розчин соляної кислоти в ізотонічному розчині натрію хлориду, виготовлений на бідистильованій воді (рН 6,95).

2. Віковий склад еритроцитів крові собак істотно впливає на характер кислотних еритрограм, змінюючи їхню форму і тривалість.

3. Гепатоз у собак ускладнюється розвитком анемії аліментарного походження. Концентрація гемоглобіну зменшується на 17 %, величина гематокриту – на 5,1 %.

4. Анемія у собак при гепатодистрофії супроводжується зменшенням на 12,0 % кількості «молодих» і зростанням на 8,4 та 3,6 % популяцій «зрілих» і «старих» еритроцитів відповідно.

Перспективи подальших досліджень. За визначенням показників кислотної резистентності та популяційного складу еритроцитів можна робити висновки не лише про стан еритроцитопоезу в організмі тварин, але й про стан різних органів і систем, які безпосередньо чи опосередковано впливають на якісні та кількісні зміни еритроцитів, що є перспективним для уточнення й встановлення діагнозу при різних патологіях у подальших дослідженнях. Порушення в організмі тварин вимагають подальшого вивчення розвитку процесу патології печінки в собак та проведення лікувально-профілактичних заходів.

Бібліографічні посилання:

1. Bershadskyi, V. I. (1996). Osoblyvosti erytropoezu ta metabolizmu v erytroidnykh klitynakh svynei v neonatalnomu periodi [Features of erythropoiesis and metabolism in pig erythroid cells in the neonatal period]: Avtoref. dys... kand. biol. nauk. Lviv. 18 p.
2. Bluck, R., Blacklock, H. (1992). Haematology valuea in cord samples from normal babies. N. Z. J. Med. Lab. Sci. v. 46. no 4, 122–123.
3. Bogdanos, D.P., Smyk, D.S., Rigopoulou, E. I., et al. (2012). Twin studies in autoimmune disease: genetics, gender and environment. J. Autoimmun, 38 (2–3), 156–169. doi: 10.1016/j.jaut.2011.11.003.
4. Butko, K. O., Kanivets, N. S., Burda, T. L., & Khomenko, A. M. (2020). Kholetsystyt u sobaky (Diahnostyka. Klinichnyy vypadok z praktyky). [Cholecystitis in dogs (Diagnosis. Clinical case from practice)] Veterynariya, tekhnolohiyi tvarynystva ta pryrodokorystuvannya, 6, 18–22. doi: 10.31890/vtpp.2020.06.02 (in Ukrainian).
5. Dirksen, K., & Fieten, H. (2017). Canine Copper- Associated Hepatitis. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, 47(3), 631–644. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.11.011.
6. Dmytrenko, N. I., & Mizin, A.V. (2014). Osoblyvosti kliniko-morfolohichnoho proiavu virusnoho hepatytu sobak. [Features of clinical and morphological manifestation of canine viral hepatitis]. Visnyk Sums'koho natsionalnoho aharnoho universytetu: Veterynarna medytsyna, 1(34), 104–106. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2014_1_31 (in Ukrainian).
7. Dykyi, O. A., Holovakha, V. I., Fasolia, V. P., & Soloviova, L. M. (2000). Informatyvni okremykh pokaznykiv dlia diahnozyky patolohii pechinky i nyrok u sobak [Informativeness of individual indicators for diagnosis of liver and kidney pathology in dogs]. Visnyk Bilotserkivskoho derzhavnogo aharnoho universytetu. Bila Tserkva, v. 11. 32–37. (in Ukrainian).
8. Dubey, J. P., Sykes, J. E., Shelton, G. D., Sharp, N., Verma, S. K., Calero-Bernal, R., Viviano, J., Sundar, N., Khan, A., & Grigg, M. E. (2015). Sarcocystis caninum and Sarcocystis svanai n. Spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) Associated with Severe Myositis and Hepatitis in the Domestic Dog (Canis familiaris). The Journal of eukaryotic microbiology, 62(3), 307–317. doi: 10.1111/jeu.12182.
9. Ganger, D. R., Rule, J., Rakela, J., Bass, N., Reuben, A., Stravitz, R. T., Sussman, N., Larson, A. M., James, L., Chiu, C., Lee, W. M., & Acute Liver Failure Study Group (2018). Acute Liver Failure of Indeterminate Etiology: A Comprehensive Systematic Approach by An Expert Committee to Establish Causality. The American journal of gastroenterology, 113 (9), 1319. doi: 10.1038/s41395-018-0160-2.
10. Halatiuk, O. Ye., Romanyshyna, T. O., & Lakhman, A. R. (2019). Patohenetychni aspekty likuvannya infektsiinoho hepatytu sobak [Pathogenetic aspects of treatment of infectious hepatitis in dogs]. Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho. Seriya: Veterynarni nauky. T. 21, no 94. 3–8. doi : 10.32718/nlvvet9401.
11. Levchenko V. I. et al. (2019). Veterynarna klinichna biokhimiia: pidruchnyk. Za red. V. I. Levchenka ta V. V. Vlizla. [Veterinary clinical biochemistry: textbook]. Bila Tserkva. 416 p. (in Ukrainian).
12. Lemeshchenko, V. V. (1999). Strukturno-funktsionalni osoblyvosti pechinkovoi arterii, pupkovoi i voritnoi ven u neonatalnykh tsutseniat [Structural and functional features of the hepatic artery, umbilical and portal veins in neonatal puppies]. Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu. v. 8 (1). Bila Tserkva, 145–149.
13. Lokes-Krupka, T. P., Vlokh, I. Yu., Baklytska, A. S., Kanivets, N. S., & Karysheva L. P. (2022). Klinichnyi vypadok khronichnoho hepatytu u sviiskoho sobaky [A clinical case of chronic hepatitis in a domestic dog]. Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho. Seriya: Veterynarni nauky. T. 24, no 107. 94–99. doi: 10.32718/nlvvet10716.
14. Longhi, M.S., Hussain, M.J., Bogdanos, D.P., et al. (2007). Cytochrome P450IID6-specific CD8 T cell immune responses mirror disease activity in autoim- mune hepatitis type 2. Hepatology. 46 (2), 472–484. doi: 10.1002/hep.21658.
15. Lucina, S. B., Sarraff, A. P., Wolf, M., Silva, V.B. C., Sousa, M. G., & Froes, T. R. (2021). Congenital Heart Disease in Dogs: A Retrospective Study of 95 Cases. Top Companion Anim Med. Jun; 43: 100505. doi: 10.1016/j.tcam.2020.10050.
16. Michael, A. E., Case, J. B., Massari, F., Giuffrida, M. A., Mayhew, P. D., Carvajal, J. L., Regier, P. J., Runge, J. J., & Singh, A. (2021). Feasibility of laparoscopic liver lobectomy in dogs. Vet Surg. Jul; 50 Suppl 1: O89–O98. doi: 10.1111/vsu.13566.
17. Morozenko, D.V., & Tymoshenko, O.P. (2012). Biokhimichni pokaznyky stanu spoluchnoi tkany u patohenezi, diahnozyty ta kontroli efektyvnosti likuvannya hepatopatii sobak [Biochemical indicators of connective tissue condition in pathogenesis, diagnosis and control of the effectiveness of treatment of canine hepatodystrophy]. Biolohiia tvaryn, 14 (1–2), 411–419 http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2012_14_1-2_67 (in Ukrainian).

18. Moskalenko, V. P. (1999). Strukturno-funktsionalni vlastyvyosti erytrotsytyv u zdorovykh i khvorykh na anemiiu teliat ta yikh zminy pry likuvanni [Structural and functional properties of erythrocytes in healthy and anemic calves and their changes during treatment]: Avtoref. dys. ... kand. vet. nauk. Bila Tserkva, 18 p. (in Ukrainian).
19. Nair, A. D., Cheng, C., Ganta, C. K., Sanderson, M. W., Alleman, A. R., Munderloh, U. G., & Ganta, R. R. (2016). Comparative Experimental Infection Study in Dogs with Ehrlichia canis, E. Chaffeensis, Anaplasma platys and A. Phagocytophilum. PloS one, 11(2), e0148239. doi: 10.1371/journal.pone.0148239.
20. Neo, S., Takemura-Uchiyama, I., Uchiyama, J., Murakami, H., Shima, A., Kayanuma, H., Yokoyama, T., Takagi, S., Kanai, E., & Hisasue, M. (2022). Screening of bacterial DNA in bile sampled from healthy dogs and dogs suffering from liver- or gallbladder-associated disease. J Vet Med Sci. Jul 25; 84 (7): 1019–1022. doi: 10.1292/jvms.22-0090.
21. O'Kell, A. L., Gallagher, A. E., & Cooke, K. L. (2022). Gastrointestinal ulceration in dogs with liver disease. J Vet Intern Med. May; 36 (3): 986–992. doi: 10.1111/jvim.16413.
22. Pena-Ramos, J., Barker, L., Saiz, R., Walker, D. J., Tappin, S., Hare, CH. Z., Roberts, M. L., Williams, T. L., & Bexfield, N. (2021). Resting and postprandial serum bile acid concentrations in dogs with liver disease. J Vet Intern Med. May; 35 (3): 1333–1341. doi: 10.1111/jvim.16134.
23. Pereira Dos Santos, J. D., Cunha, E., Nunes, T., Tavares, L., & Oliveira, M. (2019). Relation between periodontal disease and systemic diseases in dogs. Res Vet Sci. Aug; 125: 136–140. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.06.00.
24. Poldervaart, J.H., Favier, R.P., Penning, L.C., et al. (2009). Primary hepatitis in dogs: a retrospective review (2002–2006). J Vet Intern Med. 23(1), 72–80. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0215.x.
25. Rahman, S. A., Khor, K. H., Khairani-Bejo, S., Lau, S. F., Mazlan, M., Roslan, A., & Goh, S. H. (2021). Detection and characterization of Leptospira spp. in dogs diagnosed with kidney and/or liver disease in Selangor, Malaysia. J Vet Diagn Invest. Sep; 33 (5): 834–843. doi: 10.1177/10406387211024575.
26. Rozumniuk, A. V. (2002). Struktura i funktsionalni vlastyvyosti erytrotsytyv ta ikh zminy pry likuvanni teliat, khvorykh na bronhopnevmoniiu [Structure and functional properties of erythrocytes and their changes in the treatment of calves with bronchopneumonia]: Avtoref. dys. ... kand. vet. nauk. Bila Tserkva. 18 p.
27. Saunders, A. B. (2021). Key considerations in the approach to congenital heart disease in dogs and cats. J Small Anim Pract. Aug; 62 (8): 613–623. doi: 10.1111/jsap.13360.
28. Skorupski, K. A., Hammond, G. M., Irish, A. M., Kent, M. S., Guerrero, T. A., Rodriguez, C. O., & Griffin, D. W. (2011). Prospective randomized clinical trial assessing the efficacy of Denamarin for prevention of CCNU-induced hepatopathy in tumor-bearing dogs. Journal of veterinary internal medicine, 25(4), 838–845. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0743.x.
29. Soloviova, L. M. (2012). Diahnostyka ta likuvannia za babeziuzu sobak [Diagnosis and treatment of babesiosis in dogs]. Veternarna medytsyna. OOO «NTMT». no 96. Kharkiv. 405–410.
30. Soloviova, L. M., Holovakha, V. I., & Utechenko, M. V. (2001). Kliniko-biokhimichni ta histolohichni zminy pechinky u sobak pry toksychnii hepatodystrofii. [Clinical, biochemical and histological changes of the liver in dogs with toxic hepatodystrophy]. Visnyk Bilotserkivskoho derzhavnogo ahrarnoho universytetu. v. 18. Bila Tserkva. 141–147. (in Ukrainian)
31. Soloviova, L. M. (2002). Efektyvnist likuvannia toksychnoi hepatodystrofii u sobak. [Effectiveness of treatment of toxic hepatodystrophy in dogs]. Visnyk Bilotserkivskoho derzhavnogo ahrarnoho universytetu. v. 23. Bila Tserkva. 187–193. (in Ukrainian).
32. Soloviova, L. M., Yerokhina, O. M., Peresunko, O. D., & Chovhun, A. M. (2022). Dyferentsiina diahnostyka khvorob pechinky u sobak [Differential diagnosis of liver diseases in dogs]. Visnyk Sums'koho natsionalnogo ahrarnoho universytetu. Seriya: Veternarna medytsyna. no 3 (58). 51–59. doi: https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.3.9. ISSN 2708-3799. ISSN 2708-3802. (in Ukrainian).
33. Timoshenko, O. P., Snopenko, O. S., Kibkalo, D. V., Korenev, M. I., & Maslak, Yu. V. (2021). Diahnostychna znachymist vymyruvannia «kutykuliarnoho indeksu» u sobak za patolohii pechinky ta nyrok [Diagnostic value of "cuticular index" measuring in dogs with liver and kidney pathology]. Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management, 8, 78–84, doi:10.31890/vtpp.2021.08.11. (in Ukrainian).
34. Vangone, L., Cardillo, L., Riccardi, M. G., Borriello, G., Cerrone, A., Coppa, P., Scialla, R., Sannino, E., Milet ti, G., Galiero, G., & Fusco, G. (2021). Mycobacterium tuberculosis SIT42 Infection in an Abused Dog in Southern Italy. Frontiers in veterinary science, 8, 653360. doi: 10.1590/S1517-838220110004000028.
35. Watson, P. (2017). Canine Breed-Specific Hepatopathies. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, 47(3), 665–682. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.11.013.
36. Weiss, D. J., Wardrop, K. J. (2010). Schalm's veterinary hematology. Singapore: Wiley. 1232 p.
37. Wilkinson, A., Panciera, D., DeMonaco, S., Boes, K., Leib, M., Clapp, K., Ruth, J., Cecere, T., & McClendon, D. (2022). Platelet function in dogs with chronic liver disease. J Small Anim Pract. Feb; 63 (2) : 120–127. doi: 10.1111/jsap.13342.

Soloviova L. M., Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

Erythrocytopenia in canine hepatodystrophy patients

The task of the work was to analyze the dynamics of changes in the state of erythron depending on the severity of the course of hepatodystrophy.

The material for the research was 10 dogs in which acute liver failure was caused. To do this, they were orally administered a 50 % carbon tetrachloride (CCl₄) emulsion by means of a probe at a dose of 0.3 ml/kg, 0.5 and 1 ml/kg of the animal's weight with an interval of 6 days.

In the blood, acid resistance was determined (according to Gitelzon I.I., Torskov I.A.) and the population composition of erythrocytes (according to Sizova I. with co-authors, 1985).

Analysis of the acid resistance of dog erythrocytes induced by 0.00015 N HCl solution in 0.85 % NaCl solution showed that the erythrogram has well-defined left and right parts with a main peak height of 21.0 % and a hemolysis duration of 7.5 minutes. This configuration of the erythrogram is natural, since fractionation of erythrocytes in the sucrose density gradient showed that their populations are: "young" – 69.13 ± 1.0 ; "mature" – 24.5 ± 0.84 and "old" – 6.37 ± 0.35 %.

With the development of hepatodystrophy, the erythrogram also changed. Complete hemolysis of erythrocytes occurred at the sixth minute. The height of the main peak of hemolysis was 3 % higher and was 24 % at the third and a half minute, compared to the beginning of the experiment. Such a difference in the form of erythrograms before and after CCl₄ poisoning indicates a decrease in the number of "young" erythrocytes. Thus, after the introduction of CCl₄ at a dose of 1.0 ml/kg of weight, the population of "young" erythrocytes decreased by 12.03 %, compared to clinically healthy dogs, which was due to an increase in "mature" – by 8.4 % and "old" – by 3.63 %.

Thus, experimentally induced hepatodystrophy in dogs causes changes in peripheral blood. "Young" erythrocytes stop entering the bloodstream, as evidenced by changes in erythrograms and the population composition of peripheral blood erythrocytes.

The age composition of erythrocytes in the blood of dogs significantly affects the character of acidic erythrograms, the optimal form of which can be obtained when using a 0.00015 N solution of hydrochloric acid in an isotonic sodium chloride solution prepared in bidistilled water (pH 6.95).

Anemia in dogs with hepatodystrophy was accompanied by a decrease of 12.0 % in the number of "young" and an increase of 8.4 and 3.6 % in the populations of "mature" and "old" erythrocytes, respectively.

Key words: dogs, liver diseases, hepatodystrophy, acid erythrograms, diagnostic methods, erythrocytes, leukocytes, erythron, anemia, blood.