

Wpływ stosowania octanu medroksyprogesteronu na wskaźniki układu krzepnięcia krwi kotów

Justyna Radwińska

z Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie

The consequences of medroxyprogesterone acetate administration on the indicators of coagulation system in queens

Radwińska J., Department of Internal Diseases with Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn

Medroxyprogesterone acetate (MPA), is one of the most popular contraceptive administered to queens. The results of long-term research in human medicine indicate, that progestogens use, including MPA, is associated with various complications. The majority of animal studies have investigated the carcinogenic effects of MPA and its role in neoplastic processes, in particular, for the mammary gland. Coagulation problems, which are often reported in human subjects, have not been examined in animals. The aim of this study was to determine, whether the administration of MPA as a contraceptive, contributes to changes in the feline hemostatic system. Blood for laboratory analyses was sampled from queens administered the hormone in the form of oral tablets and depot injections. The results from the study have revealed enhanced procoagulant activity (shorter PT and aPTT), without augmented anticoagulant or fibrinolytic activity. Similarly to humans, prolonged administration of MPA to queens, can increase the risk of thrombosis.

Keywords: medroxyprogesterone acetate, thrombosis, PT, aPTT, queens.

Niekontrolowany wzrost populacji kotów, zwłaszcza wolno żyjących, niejako wymusił zastosowanie metod mających na celu ograniczenie ich liczebności. Najlepsze rezultaty u kotek udaje się osiągnąć przez wprowadzenie restrykcyjnych metod antykoncepcyjnych. Prowadzone na całym świecie programy sterylizacji bezdomnych zwierząt są jedną z najbardziej sprawdzonych metod zmniejszających populacje kotów i psów. Metoda ta nie jest jednak zawsze wykorzystywana w przypadku zwierząt trzymanyh w domach. Wielu właścicieli decyduje się na stosowanie antykoncepcji farmakologicznej ze względu na jej odwracalność i możliwość wykorzystania kotek w celach reprodukcyjnych w późniejszym okresie.

W zapobieganiu rui u kotek metodami niechirurgicznymi, najczęściej stosowanymi w celu opóźnienia i hamowania fazy rui, są progestageny. Leki te należą do grupy syntetycznych egzogennych hormonów steroidowych, które jako pierwsze znalazły zastosowanie w regulacji cyklu rozrodczego u suk. Po modyfikacji dawek i schematów podawania leki te z powodzeniem stosowane są u kotek. Octan medroksyprogesteronu (MPA), należący do grupy progestagenów pierwszej generacji, podawany jest w celu czasowego opóźnienia rui. Istnieją dwie zasadnicze drogi jego podania u zwierząt. Możliwe jest zastosowanie postaci iniekcyjnej (podskórnie, w formie

depot, DMAP – długodziałający) lub w formie tabletek do podawania doustnego (krótkodziałający). Hormon w postaci iniekcyjnej (w dawce 50 mg/zwierzę) zazwyczaj powtarza się po 5–6 miesiącach. Natomiast tabletki zawierające MPA stosuje się w dawce 5 mg/zwierzę, jeden raz w tygodniu (1). Poza wskazaniami rozrodczymi syntetyczne progestageny używane są w praktyce weterynaryjnej, zarówno u kotek jak kocurów, w terapii chorób dermatologicznych oraz zaburzeń behawioralnych (2). Niemniej jednak stosowanie tej substancji nie pozostaje bez negatywnego wpływu na organizmy kotów. Długotrwałe podawanie MPA może wywołać u nich m.in. zespół gruczołowo-torbielowatego rozrostu błony śluzowej macicy i ropomacicza (cystic endometrial hyperplasia – pyometra complex), hiperplazję i nowotwory gruczołu mlekowego (3). Poza tym kotki mogą wykazywać predyspozycje do otyłości i cukrzycy.

W medycynie człowieka, gdzie kładzie się zdecydowanie większy nacisk na poznanie możliwie wszystkich skutków ubocznych stosowania leków, wiadomym jest, że hormony te wpływają na układ sercowo-naczyniowy. Ponadto, liczne dane literaturowe wskazują na wpływ progestagenów na rozwój zakrzepicy żył głębokich u kobiet stosujących antykoncepcję lub hormonalną terapię zastępczą (4). Niestety, wiedza na temat wpływu MPA na układ krzepnięcia krwi u kotek jest znikoma. Stąd też podjęto próbę określenia wpływu dwóch form octanu medroksyprogesteronu (w postaci tabletek doustnych i postaci iniekcyjnej-depot) na wybrane wskaźniki koagulologiczne w trakcie terapii hormonalnej zwierząt.

Do badań zakwalifikowano w sumie 30 kotek nierasowych, w wieku od trzech do sześciu lat, zdrowych klinicznie, z których wyodrębniono do analizy trzy grupy. Podstawą weryfikacji kotek do odpowiednich grup był rodzaj stosowanej antykoncepcji. Grupa pierwsza, kontrolna, wyznaczona została do określenia zakresu referencyjnego parametrów i porównawczych analiz statystycznych, obejmowała 10 kotek nierasowych w wieku od trzech do sześciu lat, zdrowych klinicznie. Grupę drugą stanowiło 10 zwierząt otrzymujących octan medroksyprogesteronu w postaci tabletek doustnych w dawce 5 mg/kotkę jeden raz w tygodniu. Grupę trzecią utworzyło 10 zwierząt, które zabezpieczono octanem medroksyprogesteronu w postaci depot, iniekcji podskórnej, podając jednorazowo 50 mg/kotkę. Iniekcje powtarzano w odstępie 5–6 miesięcy. Zwierzęta z dwóch ostatnich grup otrzymywały środek antykoncepcyjny co najmniej w ciągu dwóch ostatnich lat.

Krew do badań laboratoryjnych pobierano do probówek z odpowiednim antykoagulantem z *vena cephalica antebrachii*. Krew pobierana była przede wszystkim w okresie wiosenno–letnim, gdy zwierzęta otrzymywały octan medroksyprogesteronu. Do oznaczenia liczby płytek krwi użyto probówek z K_2EDTA , do których pobrano 1 ml krwi i po delikatnym wymieszaniu przez odwracanie probówki w ciągu 60 min oznaczono morfologię krwi. Badania wybranych wskaźników krzepnięcia krwi wykonano w osoczu uzyskanym z krwi pobranej do probówek z 3,2% cytrynianem sodu. Próbkę tę, po dokładnym i uważnym wymieszaniu, zostały natychmiast odwirowane przez 15 min przy przyspieszeniu 1500 rpm, a uzyskane w ten sposób osocze ubogopłytkowe poddano analizom laboratoryjnym.

Badania morfologiczne krwi, w tym oznaczenie liczby płytek krwi (PLT), zostały wykonane przy użyciu analizatora hematologicznego ADVIA 2021i (Siemens), z użyciem metod opartych na cytometrii przepływowej i pomiarze laserowym. Natomiast badania wskaźników układu krzepnięcia analizowanych w doświadczeniu, czyli czasu protrombinowego (PT), czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT), czasu trombinowego (TT), aktywności antytrombiny III (ATIII), stężenia fibrynogenu (FBG) i D-dimerów (D-D), w wykonano koagulometrem Coag Chrom 3003 firmy Bio-Ksel Sp. z o.o., wykorzystując gotowe zestawy odczynników tego samego producenta.

Uzyskane wyniki testów laboratoryjnych zostały poddane analizie statystycznej. Porównywano średnie wartości poszczególnych zmiennych w grupach za pomocą testu *t*-Studenta dla danych powiązanych oraz za pomocą testu U Manna-Whitneya. Przyjęty poziom istotności wynosił $p \leq 0,05$.

Analiza koagulogramu

Uzyskane średnie wyników badań laboratoryjnych trzech grup zwierząt zamieszczono w tabeli 1. Analiza otrzymanych wyników wskaźników: TT, DD, FBG, ATIII i PLT nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupą kontrolną (1), a grupami kotek otrzymujących progestageny, odpowiednio drogą doustną i podskórną (2 i 3). W przypadku PT i aPTT stwierdzono istotne skrócenie długości czasów w osoczu kotek, które zostały zakwalifikowane do grup drugiej i trzeciej w stosunku do zwierząt z grupy pierwszej. Między grupą drugą a trzecią nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian. Mimo braku istotnego statystycznie wzrostu wartości AT III, zauważono wzmożoną aktywność tego enzymu. Otrzymane wyniki analiz koagulologicznych i liczby płytek krwi u wszystkich kotek biorących udział w badaniach mieściły się w granicach wartości zdrowych kotów opisanych przez Dirks i wsp. (5) oraz Cól i wsp. (6).

Omówienie wyników

Utrzymanie prawidłowej hemostazy wymaga zachowania bardzo labilnej równowagi między czynnikami pro-, jak i przeciwzakrzepowymi. Wzrost aktywności czynników koagulologicznych przy równoczesnym

zmniejszeniu ilości naturalnych inhibitorów może prowadzić do powstania zakrzepów w świetle naczyń krwionośnych. Zakrojone na szeroką skalę programy badań prowadzone u kobiet stosujących antykoncepcję lub hormonalną terapię zastępczą z użyciem MPA i DMPA dają niejednoznaczne wyniki. Z jednej strony opisywano korzystny wpływ tych leków na zmniejszenie ryzyka wystąpienia chorób w układzie sercowo–naczyniowym, jednak obecnie zwraca się uwagę na wzrost liczby przypadków wystąpienia żyłnej choroby zatorowo–zakrzepowej w trakcie ich stosowania. Podjęte badania wykazały, że stosowany MPA nie pozostaje także bez wpływu na układ hemostazy u badanych kotek. Podobnie jak u ludzi, nie mają one charakteru nagłych i ostrych zaburzeń, ale mogą stanowić punkt wyjścia do formowania się zakrzepów w układzie krążenia. Najbardziej istotne zmiany w wynikach badań laboratoryjnych przeprowadzonych badań zaobserwowano we wskaźnikach: PT, aPTT.

Skrócenie wskaźnika PT i aPTT zanotowane u kotek, które otrzymywały MPA lub DMPA, może odzwierciedlać stan, w którym czynniki antykoagulacyjne nie są w stanie zrównoważyć tendencji prozakrzepowych. Wskaźnik PT pozwala na określenie stopnia aktywacji szlaku czynnika tkankowego (dawniej droga zewnątrzpochodnej aktywacji krzepnięcia krwi), natomiast aPTT umożliwia ocenę sprawności przebiegu procesów krzepnięcia na szlaku czynników kontaktu (drodze wewnątrzpochodnej aktywacji krzepnięcia krwi). Długości PT i aPTT zależą od zawartości w osoczu białek uczestniczących w krzepnięciu i tak odpowiednio: PT od stężenia protrombiny, czynników V, VII, X, natomiast aPTT od czynników II, V, VIII, IX, X, XI, XII. Stężenie fibrynogenu ma wpływ na długość obydwu czasów. Wskaźniki te, PT i aPTT, są bardzo wrażliwe zwłaszcza na zmniejszenie zawartości wspomnianych czynników w osoczu, np. w wyniku zaburzeń ich syntezy w przebiegu chorób wątroby lub ich wzmożonego zapotrzebowania w organizmie kotów (np. DIC; 5). Obserwowane zmiany w postaci skrócenia PT i aPTT mogły być skutkiem wzmożonej aktywności enzymów kaskady krzepnięcia bądź wzrostem stężenia odpowiednich osoczowych czynników krzepnięcia krwi. Podobne wnioski zostały postawione po przeprowadzeniu wstępnych badań u ludzi (7). Przy czym niektórzy badacze podkreślają, że negatywne zmiany w układzie osoczowych czynników krzepnięcia u ludzi pojawiają w ciągu pierwszych miesięcy po podaniu MPA, natomiast zmniejszenie np. aktywności AT III występuje dopiero po 15 miesiącach po zastosowaniu progestagenu (8). W odróżnieniu od cytowanych badań, zauważono, że aktywność AT III w osoczu kotek otrzymujących MPA jest wyższa niż u kotek z grupy pierwszej. Ponieważ AT III jest jednym z najważniejszych, naturalnych czynników hamujących proteazy serynowe układu krzepnięcia (9), może to wskazywać, że układ antykoagulacyjny u tych zwierząt dąży do utrzymania równowagi w hemostazie i stara się nie dopuścić do powstania zakrzepów krwi. Antytrombina III wywiera duży wpływ inhibicyjny na trombinę i aktywne postacie

Tabela 1. Średnie wyniki wybranych wskaźników koagulogramu kotek z grupy kontrolnej (1) i kotek otrzymujących MPA doustnie w formie tabletek (2) oraz iniekcji podskórnej (3)

| | PT s | aPTT s | TT s | D-D µg/ml | FBG g/L | ATIII % | PLT 10 ³ /µL |
|----|---------|-----------|---------|--------------|------------|------------|----------------------------|
| 1 | 10,12 | 12,77 | 15,33 | 0,59 | 1,42 | 103,20 | 259,50 |
| SD | 0,44 | 0,32 | 0,25 | 0,10 | 0,25 | 99,83 | 15,07 |
| 2 | 9,93* | 11,02* | 15,06 | 0,53 | 1,16 | 110,30 | 327,90 |
| SD | 0,45 | 0,32 | 0,25 | 0,07 | 0,25 | 5,85 | 24,52 |
| 3 | 9,72* | 11,05* | 15,40 | 0,52 | 1,05 | 112,70 | 230,40 |
| SD | 0,32 | 0,28 | 0,38 | 0,08 | 0,24 | 4,40 | 16,10 |

Objaśnienia: PT – czas protrombinowy, aPTT – czas częściowej trombolastyny po aktywacji, TT – czas trombinowy, ATIII – aktywność antytrombiny III, FBG – stężenie fibrynogenu, D-D – stężenie D-dimerów; * – $p \leq 0,05$.

czynników IX, X, XI, XII. W przypadku pozostałych czterech wskaźników koagulogramu, mianowicie: TT, selektywnie oceniającego wspólną drogę krzepnięcia krwi, stężenia D-D, będących wskaźnikiem aktywacji plazminy i rozpadu fibryny, stężenia FBG i liczby PLT u kotek otrzymujących progestagen, pozostawały na poziomie wyników badań otrzymanych we krwi kotek z grupy kontrolnej.

Otrzymane wyniki, wskazujące na zwiększoną tendencję prokoagulacyjną krwi kotek z grup drugiej i trzeciej w okresie podawania hormonu, znajdują potwierdzenie w badaniach prowadzonych przez Freudenberger i wsp. (10) u myszy, którym podawano MPA. Wykazały one zwiększoną generację trombinę we krwi zwierząt, co w rezultacie prowadziło do wzrostu formowania i stabilności zakrzepów. Co ciekawe, efektu takiego nie obserwowano u zwierząt otrzymujących MPA w połączeniu z estrogenem. Wcześniej podobne wnioski sformułowali Nobukata i wsp. (11), którzy zauważyli, że po podaniu szczerom MPA dochodzi do skrócenia czasu krwawienia i miało to sugerować, że albo sam MPA bądź jego metabolity mogą stymulować krzepnięcie krwi. Ponadto Bednarek-Tupikowska i wsp. (12) potwierdzili, że u kobiet stosujących hormonalną terapię zastępczą, po czterech miesiącach skojarzonego podawania MPA wystąpiło m.in. istotne zwiększenie aktywności protrombiny, białka S oraz zmniejszenie stężenia białka C, a więc także przesunięcie hemostazy w kierunku prokoagulacyjnym. Podobnie jak w omawianych wynikach badań prowadzonych u kotek, Bednarek-Tupikowska i wsp. (12) również nie wykazali wpływu stosowanej terapii na stężenie fibrynogenu.

MPA a śródbłonek naczyń krwionośnych

Prozakrzepowe działanie MPA może dodatkowo wynikać z jego modulującego wpływu na śródbłonek naczyń krwionośnych. Komórki tej tkanki biorą czynny udział w kontroli syntezy trombinę, agregacji płytek krwi, fibrynolizy oraz wzrostu i funkcji mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Endotelium produkuje wiele istotnych w hemostazie, aktywnych czynników, w tym m.in. tlenek azotu (NO), inhibitor aktywatora plazminogenu (plasminogen activator inhibitor, PAI) czy czynnik von Willebranda

(von Willebrand factor, vWF). Zaobserwowano, że MPA podobnie jak progesteron powoduje ograniczenie antyagregacyjnego efektu działania komórek śródbłonna przez zmniejszenie ekspresji eNOS (endothelial NO synthase) i w konsekwencji spadek uwalniania NO. Wykazano, że progestageny takie jak progesteron i MPA wykazują duże powinowactwo do receptorów glukokortykoidowych, wywołując w odpowiednich komórkach efekt taki jak same glikokortykoidy. Nie dotyczy to jednak wszystkich progestagenów (np. nomegestrol; 13). Przeciwwzakrzepowe właściwości NO obejmują hamowanie adhezji i agregacji płytek krwi oraz ekspresji czynnika tkankowego, fizjologicznego aktywatora kaskady krzepnięcia krwi, na powierzchni śródbłonna (14, 15). Co więcej, progestageny wykazujące częściową aktywność glikokortykosteroidów mogą powodować inicjację krzepnięcia krwi przez zwiększenie dostępności receptorów trombinowych na komórkach mięśni gładkich (16).

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że stosowany u kotek MPA wykazuje działanie prokoagulacyjne, co jest prawdopodobnie wynikiem zwiększonej generacji trombinę. Ponadto, możliwe jest działanie MPA poprzez modulację funkcji wydzielniczej komórek śródbłonna. Obserwowane zmiany hematologiczne mogą sprzyjać rozwojowi choroby zakrzepowo-zatorowej naczyń krwionośnych u kotów, jednak do sformułowania jednoznacznych wniosków, jakie stawiane są w medycynie człowieka, konieczne są dalsze, długoterminowe obserwacje kotek otrzymujących octan medroksyprogesteronu.

Piśmiennictwo

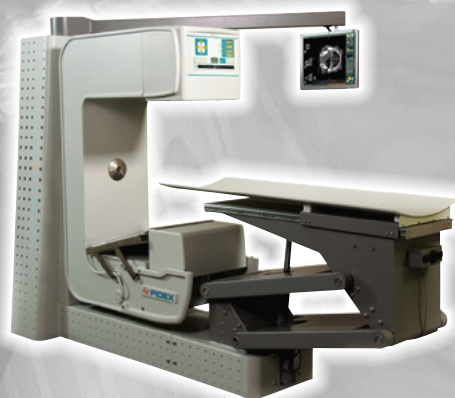
- Zduńczyk S., Janowski T.: *Reproductive disorders of dogs and cats*. Wydawnictwo UWM, Olsztyn, 2002, pp. 119–123.
- Jacobs T.M., Hoppe B.R., Poehlmann C.E., Ferracane J.D., Sorenmo K.U.: Mammary adenocarcinomas in three male cats exposed to medroxyprogesterone acetate (1990–2006). *J. Feline Med. Surg.* 2010, 12, 169–174.
- Keskin A., Yilmazbas G., Yilmaz R., Ozyigit M.O., Gumen A.: Pathological abnormalities after long-term administration of medroxyprogesterone acetate in a queen. *J. Feline Med. Surg.* 2009, 11, 518–552.
- van Hylckama Vlieg A., Helmerhorst F.M., Rosendaal F.R.: The risk of deep venous thrombosis associated with injectable depot-medroxyprogesterone acetate contraceptives or

- a levonorgestrel intrauterine device. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010, **30**, 2297–2300.
5. Dircks B., Nolte I., Mischke R.: Haemostatic abnormalities in cats with naturally occurring liver diseases. *Vet. J.* 2012, **193**, 103–108.
 6. Cól R., Montgomery A., Iazbik M.C., Defelice A., Saavedra P.V., Couto G.: Whole-blood thrombelastography using calcium chloride activation in healthy cats. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2013, **37**, 68–75.
 7. Goldstein J., Cushman M., Badger G.J.: Effect of depomedroxyprogesterone acetate on coagulation parameter: a pilot study. *Fertil. Steril.* 2007, **87**, 1267–1270.
 8. Fahmy K., Khairy M., Allam G., Gobran F., Alloush M.: Effect of depo-medroxyprogesterone acetate on coagulation factors and serum lipids in Egyptian women. *Contraception.* 1991, **44**, 431–444.
 9. Dąbrowska J., Wiśniewski E.: Antithrombin III – elementary inhibitor of blood coagulation. *Med. Weter.* 1993, **49**, 395–396.
 10. Freudenberger T., Oppermann M., Marzoll A., Heim H.K., Mayer P., Kojda G., Weber A.A., Schrör K., Fischer J.W.: Differential effects of medroxyprogesterone acetate on thrombosis and atherosclerosis in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2009, **158**, 1951–1960.
 11. Nobukata H., Katsuki Y., Ishikawa T., Inokuma M., Shibutani Y.: Effect of dienogest on bleeding time, coagulation, fibryno lysis, and platelet aggregation in female rats. *Toxicol. Lett.* 1999, **104**, 93–101.
 12. Bednarek-Tupikowska G., Urbaniak-Kujda D., Kapelko-Słowik K., Wołowicz D., Dybko J.: Influence of transdermal estradiol and estradiol with medroxyprogesterone acetate on selected serum coagulation parameters in postmenopausal women. *Dent. Med. Probl.* 2006, **43**, 195–200.
 13. Zerr-Fouineau M., Chataigneau M., Blot Ch., Schini-Kerth V.B.: Progestins overcome inhibition of platelet aggregation by endothelial cells by down-regulating endothelial NO synthase via glucocorticoid receptors. *FASEB J.* 2007, **21**, 265–273.
 14. Azuma H., Ishikawa M., Sckizaki S.: Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. *Br. J. Pharmacol.* 1986, **88**, 411–415.
 15. Yang Y., Loscalzo J.: Regulation of tissue factor expression in human microvascular endothelial cells by nitric oxide. *Circulation* 2000, **101**, 2144–2148.
 16. Herkert O., Kuhl H., Sandow J., Busse R., Schini-Kerth V.B.: Sex steroids used in hormonal treatment increase vascular procoagulant activity by inducing thrombin receptor (PAR-1) expression: role of the glucocorticoid receptor. *Circulation* 2001, **104**, 2826–2831.

Dr Justyna Radwińska, e-mail: justyna.radwinska@uwm.edu.pl

Diagnostyka obrazowa klasy PREMIUM

Weterynaryjny tomograf komputerowy ANIMAGE



- System trójmodalny: CT + DR + Fluo
- Nowy system: 6 × szybszy
- Automatyczna kontrola oddechu

RTG bezpośredni INTECH SL



- Panel DR nr 1 na świetle
- Oprogramowanie wspierające DICOM + Worklist
- Dedykowany dla weterynarii

NISKIE KOSZTY EKSPLOATACJI

Zadzwoń i zapytaj o szczegóły • Marek: 601 845 055 • Dominika: 726 300 777

www.AnalizatoryWeterynaryjne.pl