

Wskazania do badania stężeń białek ostrej fazy o umiarkowanym znaczeniu u koni*

Agnieszka Turło, Anna Cywińska, Anna Winnicka

Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Białka ostrej fazy to grupa swoistych dla danego gatunku białek osocza o różnorodnej budowie, uwalnianych do krwiobiegu w reakcji na różnego typu zaburzenia homeostazy. Kryterium zaliczenia białka do tej grupy jest zmiana jego stężenia we krwi o co najmniej 25% w następstwie uszkodzenia tkanek. Rodzaj i nasilenie tych zmian są podstawą klasyfikacji

na pozytywne i negatywne białka ostrej fazy oraz białka główne i o umiarkowanym lub niewielkim znaczeniu. Stężenie pozytywnych białek ostrej fazy rośnie po uszkodzeniu tkanek, a negatywnych maleje. Białka główne to te, których stężenie rośnie 10–1000 razy, osiągając maksymalną wartość w ciągu 24–48 godz. od uszkodzenia. Charakteryzują się one nie tylko

dynamicznym wzrostem po zadziałaniu czynnika uszkadzającego, ale również szybkim powrotem do wartości fizjologicznej po jego ustąpieniu. Stężenie białek o umiarkowanym znaczeniu rośnie 5–10 razy w ciągu pierwszych trzech dni od uszkodzenia i pozostaje podwyższone nawet do 4 tygodni. Może więc nie oddawać aktualnego stanu zdrowia organizmu. Wzrost stężenia białek o niewielkim znaczeniu nie przekracza dwukrotnej wartości ich stężenia fizjologicznego i przebiega na przestrzeni tygodni.

Uwalnianie białek ostrej fazy jest jednym z mechanizmów reakcji ostrej fazy, która ma na celu ograniczenie uszkodzenia tkanek, przyspieszenie gojenia i przywrócenie homeostazy po zadziałaniu czynnika uszkadzającego. Ich role biologiczne są zróżnicowane i swoiste dla danego białka. Większość pełni jednak funkcję immunomodulującą, wpływając na aktywację neutrofilów i monocytów, chemotaksję,

* Praca była współfinansowana w ramach projektu badawczego N N308 577139 (kierownik: prof. dr hab. Anna Winnicka)

Application of moderate acute phase proteins levels in the diagnosis of equine diseases

Turło A., Cywińska A., Winnicka A., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This paper aims at the presentation of possible application of chosen acute phase proteins (APPs) as disease indicators in equine medicine. Acute phase proteins comprise a group of plasma proteins which concentrations significantly change in response to tissue injury of different origin. Therefore, APPs are regarded as non-specific markers of inflammation and as such are widely applied in veterinary medicine. Plasma concentrations of negative APPs decrease, whereas positive APPs values increase during the course of inflammatory response. Depending on the range of plasma concentrations elevation, they are classified as major, moderate and minor APPs. In horses, fibrinogen, haptoglobin, C-reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein are moderate APPs with their concentrations increasing up to 10-fold in 3 to 6 days following the injury. Their concentrations remain elevated for weeks after a single stimulation. Therefore, they might not reflect the present health status of the patient. Plasma concentrations of fibrinogen and haptoglobin may be influenced by factors other than inflammation. Automated field or in-clinic tests are available for plasma fibrinogen level determination, whereas other moderate APPs are mostly applied in research laboratories. In horses suffering with colic, elevated concentrations of APPs may also appear in peritoneal fluid, indicating presence of ischaemic intestinal injuries.

Keywords: acute phase proteins, fibrinogen, haptoglobin, horse, diagnosis.

fagocytozę, uwalnianie cytokin i enzymów proteolitycznych.

Z uwagi na fakt, że każde zaburzenie homeostazy, niezależnie od przyczyny, powoduje zmiany stężeń białek ostrej fazy, są to wskaźniki nieswoiste, które dostarczają informacji na temat toczącego się procesu zapalnego. Nie są zatem podstawą rozpoznania, mogą jednak być pomocne w wykrywaniu chorób o słabo wyrażonych lub nieswoistych objawach klinicznych.

Fibrinogen (Fb)

Jest jednym z najlepiej poznanych białek ostrej fazy, dlatego stężenie fibrynogenu jest rutynowo oznaczane w praktyce klinicznej jako wskaźnik zapalenia. Należy do czynników krzepnięcia krwi i z tym jest związana jego rola w modulowaniu procesu zapalnego. Pod wpływem enzymu trombiny fibrynogen przekształca się w nierozpuszczalną fibrynę, kończąc kaskadę

krzepnięcia krwi. Ma powinowactwo do receptorów powierzchniowych płytek krwi i powoduje ich agregację i formowanie się skrzepu. Jest to pierwszy etap procesu gojenia się tkanek. Fibrynogen i pochodne jego rozpadu wpływają ponadto na aktywację makrofagów, monocytów i komórek dendrytycznych, stymulując uwalnianie cytokin prozapalnych (TNF-alfa, IL-1) oraz fagocytozę. Za pośrednictwem komórek tucznych mogą regulować ciśnienie krwi w organizmie (1). Fizjologiczne stężenie fibrynogenu we krwi koni jest wysokie (1000–5000 mg/l) (2, 3). Powoduje to formowanie przez erytrocyty tzw. rulonów, widocznych w rozmazie krwi. Powstawanie rulonów polega na nieswoistym przyleganiu sąsiadujących krwinek do cząstek fibrynogenu i jest łatwo odwracalne. Zjawisko to u innych gatunków zwierząt występuje tylko podczas zapalenia, natomiast u koni jest uważane za fizjologiczne. Podczas zapalenia stężenie fibrynogenu u koni wzrasta maksymalnie do 10 razy, zgodnie z obowiązującą klasyfikacją (4) jest to więc białko ostrej fazy o umiarkowanym znaczeniu (2, 3, 5, 6, 7, 8). Fizjologiczne podwyższenie jego stężenia obserwuje się u klaczy w okresie okołoporodowym (do 7 dni *post partum*; 9) oraz u źrebiąt od 1 tygodnia do 6 miesięcy życia (10). Wśród stanów patologicznych, powodujących wzrost stężenia fibrynogenu wymienia się zapalenie płuc (2, 7), obecność ropni i ropiejących ran (2), zapalenie stawów (6), posocznicę źrebiąt (5), morzyska o podłożu zapalnym (8, 11), ponadto wzrost jego stężenia wykazano w następstwie zabiegów chirurgicznych (3, 12). Wzrost stężenia fibrynogenu jest stosunkowo powolny, rozpoczyna się 24 godziny po uszkodzeniu tkanek i osiąga szczyt w 3–6 dniu. Podwyższony poziom fibrynogenu utrzymuje się co najmniej 11–15 dni po zadziałaniu czynnika uszkadzającego (3, 6, 12), może więc nie odzwierciedlać aktualnego obrazu stanu zdrowia. W zapaleniu miejscowym stężenie fibrynogenu osiąga niższe wartości, niż w zapaleniu ogólnym (13). Wzrost jego stężenia w następstwie zabiegów chirurgicznych zależy od ich inwazyjności. Po artroskopii i zabiegach chirurgicznych na górnych drogach oddechowych osiąga niższe wartości niż po laparotomii (12). Jednak stężenie fibrynogenu nie zmienia się w zależności od charakteru procesu zapalnego, osiągając zbliżone wartości w zapaleniu ostrym, podostrym i przewlekłym (13). W testach mających na celu wczesne rozpoznawanie zakażeń *Rhodococcus equi* u źrebiąt, fibrynogen okazał się mniej przydatnym wskaźnikiem niż całkowita liczba białych krwinek we krwi (7). Stężenie fibrynogenu może pozostać niezmienione nie tylko we wczesnym etapie zapalenia. Przy koagulopatii ze zużycia, fibrynogen

jest intensywnie wykorzystywany w kaskadzie krzepnięcia krwi i dlatego nie stwierdza się wzrostu jego stężenia w przebiegu reakcji ostrej fazy (14). Prawidłowe lub obniżone stężenie fibrynogenu we krwi opisano u koni ze skrzętem okrężnicy dużej (15) oraz u koni z *colitis*, u których stwierdzono podkliniczny zespół rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (disseminated intravascular coagulation – DIC; 16). Również konie z uogólnionym zapaleniem, przebiegającym z posocznicą, są narażone na wystąpienie DIC, o czym należy pamiętać, interpretując wynik badania stężenia fibrynogenu.

Metody oznaczania stężenia fibrynogenu

W porównaniu do innych białek ostrej fazy, stężenie fibrynogenu we krwi jest wskaźnikiem najłatwiejszym do oznaczenia w warunkach klinicznych. Wynika to z dostępności prostych w obsłudze, zautomatyzowanych testów, przeznaczonych głównie dla koni. Do metod wykorzystywanych w analizatorach należy pomiar czasu trombinowego (metoda von Claussa; VetScan VSpro, Abaxis, Union City CA USA), metoda precypitacji cieplnej (IDEXX VetAutomated Hematology Analyzer, IDEXX Laboratories, Westbrook ME USA) oraz immunoturbidymetria (QuickVet Specjalty Analyzer, Scandinavian Micro Biodevices Aps, Farum Denmark). Techniki te są rutynowo stosowane w badaniach naukowych (2, 3, 5, 6, 7, 11, 13, 15, 16). Do testów użytkowanych jedynie w celach naukowych należy metoda wykorzystująca badanie czasu protrombinowego, immunofuzji radialnej oraz oceny fibrynogenu po skrzepnięciu (17). W celu wykonania większości opisanych testów krew należy pobierać do probówki z cytrynianem sodowym, wyłączając metodę precypitacji cieplnej, gdzie wymagany antykoagulantem jest wersenian sodu (EDTA).

Haptoglobina (Hp)

Haptoglobina jest alfa₂-kwaśną glikoproteiną, której synteza u koni zachodzi głównie w wątrobie. Jej powinowactwo do wolnej hemoglobiny stanowi jeden z najsukcesywniejszych mechanizmów chroniących organizm przed toksycznymi skutkami hemolizy (18). Hemoglobina po uwolnieniu z erytrocytów wykazuje silne działanie redukujące, biorąc udział w powstawaniu wolnych rodników tlenowych. Prowadzi to do peroksydacji lipidów błon komórkowych, a w konsekwencji do ich uszkodzenia. Ponadto wolna hemoglobina wiąże tlenek azotu (NO), ograniczając jego działanie jako czynnika rozszerzającego naczynia, co może prowadzić do wzrostu ciśnienia krwi. Haptoglobina zapobiega szkodliwym

skutkom obecności wolnej hemoglobiny, tworząc z nią kompleksy, które pochłaniane są przez monocyty i makrofagi, a następnie degradowane w hepatocytach. Umożliwia to odzyskanie i powtórne wykorzystanie żelaza hemowego, a także zmniejszenie jego dostępności dla bakterii, co skutecznie ogranicza ich namnażanie (19). W przebiegu zapalenia haptoglobina bierze udział w aktywacji neutrofilów, hamuje syntezę prostaglandyn i leukotrienów (20), a także przyspiesza gojenie się tkanek, stymulując angiogenezę (21). Jej stężenie jako białka ostrej fazy wówczas rośnie, przekraczając o 1,5–10 razy stężenie fizjologiczne, które u koni zawiera się między 500 a 8000 mg/ml (3, 6, 22, 23). U źrebiąt stężenie haptoglobiny jest wyższe i może sięgać górnej granicy tego przedziału (5250 ± 2360 mg/l), podczas gdy u koni dorosłych wynosi ono średnio 2190 ± 1540 mg/l (22). W okresie okołoporodowym u kłaczki występuje przejściowy wzrost (poród), a następnie spadek (2 tyg. po porodzie) stężenia haptoglobiny. Powraca ono do normy w granicach miesiąca po porodzie (22).

Wzrost stężenia haptoglobiny związany z reakcją ostrej fazy opisano u koni z chorobami układu oddechowego (nawracająca obturacja dróg oddechowych – RAO, zapalenie płuc; 3, 22), pokarmowego (dysautonomia, zapalenie jelit, biegunki u źrebiąt, 22, 25), doświadczalnie wywołanym zapaleniem stawów (6), a także w następstwie zabiegów chirurgicznych (22, 26, 27). Haptoglobina jest umiarkowanie czułym markerem zapalenia, dlatego zmiana jej stężenia jest wykrywalna dopiero po 24 godz. od uszkodzenia bądź zakażenia tkanek, a maksymalną wartość osiąga po upływie 3 do 5 dni. Powrót do stężenia wyjściowego może trwać nawet do miesiąca (3, 22, 26, 27). U koni z RAO stężenie haptoglobiny nie reaguje na zaostrzenie choroby (24), natomiast wzrasta u pacjentów

z powikłaniami pooperacyjnym (27). Nie jest więc jednoznaczne, czy jest to wskaźnik użyteczny w określaniu rodzaju zapalenia i kontrolowaniu jego przebiegu.

Haptoglobina oznaczana kontrolnie raz w miesiącu w stadzie koni pełnej krwi angielskiej wykazała wzrost stężenia w obecności podklinicznego zakażenia wirusowego, potwierdzonego wzrostem miana wirusa w surowicy. U szczepionych i nieszczepionych kuców, eksperymentalnie zakażonych wirusem grypy, również stwierdzono 2–3-krotny wzrost stężenia haptoglobiny (28). Może to wskazywać na jej zastosowanie w monitorowaniu zdrowia stada.

Odnosząc się do biologicznej funkcji wiązania przez to białko wolnej hemoglobiny, wpływ na stężenie haptoglobiny we krwi ma również hemoliza wewnętrzznacyniowa. Przykładem tego jest hemoliza występująca u koni poddawanych ciężkiemu wysiłkowi fizycznemu (29, 30, 31). U koni wyścigowych bezpośrednio po ukończeniu wysiłku opisano wzrost stężenia wolnej hemoglobiny we krwi oraz spadek stężenia haptoglobiny (29). Zmianę tę przypisywano szybkiemu wychytowi powstających we krwi kompleksów hemoglobina-haptoglobina (Hb-Hp). Natomiast długotrwały wzrost stężenia haptoglobiny w przebiegu treningu (23) można tłumaczyć adaptacją organizmu do powtarzających się epizodów hemolizy powysiłkowej. Wyniki badań w tym zakresie nie są jednak jednoznaczne i ostrożnie należy podchodzić do wszelkich uogólnień.

Metody oznaczania stężenia haptoglobiny

Stężenie haptoglobiny badane jest głównie w celach naukowych. Stosowane w tym celu metody obejmują immunodfuzję radialną (30), elektroforezę w żelu agarozowym

(32), immunoturbidymetrię (33) oraz wykrywanie kompleksów hemoglobina-haptoglobina metodą kolorymetryczną (31). Immunoturbidymetria i wykrywanie kompleksów Hb-Hp należą do najczęściej aktualnie wykorzystywanych metod i wykazują wysoki współczynnik korelacji (28). Udowodniono przydatność komercyjnych testów immunoturbidymetrycznych przeznaczonych dla ludzi do oznaczania stężenia haptoglobiny u psów i koni (33).

Białko C-reaktywne (CRP)

Białko C-reaktywne było pierwszym opisanym białkiem ostrej fazy, wykrytym w 1930 r. u ludzi, w reakcji na zakażenie *Streptococcus pneumoniae*. Należy do głównych białek ostrej fazy u ludzi, psów i świń (34). W patofizjologii zapalenia, CRP pełni zarówno funkcje stymulujące, jak i hamujące ten proces. Do prozapalnych działań CRP należy nieswoiste wiązanie patogenów i uszkodzonych komórek oraz aktywacja dopełniacza i komórek fagocytarnych. Równocześnie hamuje ono adhezję neutrofilów do śródbłonna, ogranicza wybuch tlenowy oraz wpływ IL-1 na komórki jednojądrzaste (34). W przeciwieństwie do ludzi, u koni CRP pełni rolę białka ostrej fazy o umiarkowanym znaczeniu, którego stężenie w zapaleniu wzrasta od 3 do 6 razy (35, 36). Jego wzrost opisano w zapaleniu jelit i płuc u koni dorosłych i u źrebiąt oraz w następstwie zabiegów chirurgicznych u koni dorosłych (36). W przypadku źrebiąt, stężenie CRP we krwi bezpośrednio po urodzeniu jest niewykrywalne, jednak już w trzecim dniu osiąga wartości równe oznaczanym u dorosłych osobników. Być może jest to efekt pobrania siary, co może potwierdzać obecność innych białek ostrej fazy w sianie kłaczki (37) oraz obecność CRP w sianie krowy (38). Podobnie jak w przypadku haptoglobiny,

Tabela 1. Charakterystyka białek ostrej fazy u koni (3, 6, 22, 36, 41, 47, 55, 56)

Białko ostrej fazy	Wzrost stężenia po zadziałaniu czynnika uszkodzającego	Zakres stężeń we krwi zdrowych koni (średnie stężenie) mg/ml	Zakres stężeń w płynie otrzewnowym zdrowych koni mg/ml	Czas od uszkodzenia tkanek do zmiany stężenia	Czas od uszkodzenia tkanek do osiągnięcia maksymalnego stężenia	Minimalny czas od uszkodzenia tkanek do powrotu do początkowego stężenia
Surowiczy amyloid A (SAA)	10–1000 ×	0,5–20 (2,9 ± 3,5)	0,5–8,8	6 h	36–48 h	5–7 dni
Fibrynogen (Fb)	5–10 ×	1000–5000 (2500 ± 700)	< 500	24 h	72 h	11–15 dni
Haptoglobina (Hp)	5–10 ×	500–8000 (2190 ± 1540)	1090–7260	24 h	72 h	28 dni
Białko C-reaktywne (CRP)	5–10 ×	4,6–14,1 (7,9 ± 3,3)	–	24 h	72–120 h	14–21 dni
α_1 -kwaśna glikoproteina (AGP)	5–10 ×	72,33–126,13 (99,23 ± 26,90)	–	36 h	48–72 h	14–28 dni
Ceruloplazmina (Cp)	do 2 ×	2500–7000 (5020 ± 920)	–	6 dni	7–14 dni	28 dni

stężenie CRP odpowiedzi na uszkodzenie tkanek rośnie powoli i pozostaje podwyższone do 3 tygodni po ustąpieniu objawów. Nie wykazano wpływu wysiłku fizycznego na stężenie CRP we krwi (39).

Metody oznaczania stężenia białka C-reaktywnego

Do oznaczania CRP stosowano metody laboratoryjne immunodifuzji radialnej (36), elektroforezy w żelu agarozowym (35) oraz immunoturbidymetrii (40).

α_1 -kwaśna glikoproteina (AGP) i ceruloplazmina (Cp)

Wśród białek ostrej fazy koni, α_1 -kwaśna proteina i ceruloplazmina są rzadko uwzględniane w badaniach klinicznych. Wynika to z ich niskiego stężenia we krwi, które w zapaleniu ulega niewielkim zmianom. Stężenie AGP wzrastało 2–3-krotnie w trzecim dniu po przeprowadzeniu kastracji oraz eksperymentalnej enterostomii (41) oraz u koni z objawami niedrożności jelit cienkich (42). U pacjentów pooperacyjnych, powrót stężenia AGP do wartości wyjściowej nastąpił po 2–4 tyg. (41). U innych gatunków, m.in. świń i bydła, AGP występuje w wyższych stężeniach niż u koni (43) i pełni istotną rolę w wiązaniu endogennych i egzogennych substancji aktywnych biologicznie, w tym leków. W badaniu przeprowadzonym na świnach AGP okazała się jednym z głównych, obecnych we krwi białek, wiążących antybiotyki. Uwzględniając wzrost stężenia AGP w zapaleniu, jego wpływ na farmakokinetkę wybranych leków u chorych zwierząt może okazać się znaczny (43). AGP, jak większość białek ostrej fazy, wykazuje działanie immunomodulacyjne, hamując aktywację neutrofilów oraz bezpośrednio wiążąc i neutralizując lipopolisacharyd (44, 45).

Ceruloplazmina jest antyoksydantem, który hamuje utleniające działanie jonów żelaza na fosfolipidy błony mikrosomów (46). Jest białkiem ostrej fazy o niewielkim znaczeniu. W ciągu 7–14 dni po eksperymentalnym wywołaniu zapalenia jej stężenie zwiększa się nie więcej niż dwa razy (47). Do oznaczenia stężenia AGP i Cp wykorzystywano metodę immunodifuzji radialnej (41), która nie znajduje zastosowania jako szybki test diagnostyczny.

Badanie stężeń białek ostrej fazy w płynie otrzewnowym

Powyżej omówiono znaczenie diagnostyczne zmian stężeń białek ostrej fazy we krwi. W części opisanych przypadków, przede wszystkim w morzyskach i zabiegach chirurgicznych na jamie brzusznej,

badaniu poddawano również płyn otrzewnowy. Pobranie i analiza płynu otrzewnowego jest często stosowaną techniką diagnostyczną u pacjentów z podejrzeniem chorób układu pokarmowego. Ocena makroskopowa oraz badanie biochemiczne i cytologiczne płynu otrzewnowego mogą wskazywać na charakter uszkodzenia jelit, co ułatwia postawienie ostatecznego rozpoznania, a także podjęcie decyzji o leczeniu operacyjnym (48). Przydatność badania stężenia białek ostrej fazy w płynie otrzewnowym analizowano na różnych etapach postępowania z pacjentami wykazującymi objawy morzyskowe. Wartości referencyjne stężeń w płynie otrzewnowym u zdrowych koni określono dla surowiczego amyloidu A (SAA), haptoglobiny i fibrynogenu. Dla SAA zawierają się one w przedziale <0,5–8,8 mg/l, nie przekraczając 0,5 mg/l u 98% badanych osobników. Dla haptoglobiny (Hp) wartości te wynoszą 1090–7260 mg/l, o większej rozpiętości rozkładu u klaczy niż u wałachów i ogierów (50). Za wartość referencyjną dla fibrynogenu (Fb) w płynie otrzewnowym przyjmuje się stężenie <500 mg/l (50). U koni z objawami morzyskowymi stężenie SAA w płynie otrzewnowym wielokrotnie wzrasta. Jest to jednak zmiana o mniejszym zakresie, niż zmiana jego stężenia we krwi tych samych osobników. Wzrost stężenia Hp w płynie otrzewnowym wystąpił zarówno u chorych koni przed podjęciem leczenia (50), jak i u kuców, u których objawy morzyskowe pojawiły się w następstwie laparotomii diagnostycznej (27). Wzrost SAA i Hp stwierdzono u koni z morzyskami o różnej etiologii i nasileniu objawów. Jeśli chodzi o białko C-reaktywne, znaczący wzrost jego stężenia w płynie otrzewnowym występuje jedynie w przypadku ostrego niedokrwienia wynikającego ze skrętu lub uwięźnięcia jelit cienkich (51). Stężenie fibrynogenu również osiąga wyższe wartości u koni badanych z powodu wystąpienia objawów morzyskowych, niż u koni z grupy kontrolnej (52). Zabiegi chirurgiczne na jamie brzusznej mogą wywołać okresowy wzrost (53) lub nie spowodować zmiany stężenia fibrynogenu w płynie otrzewnowym (54).

Podsumowanie

Fibrynogen, haptoglobina i białko C-reaktywne są białkami ostrej fazy o umiarkowanym znaczeniu, które znajdują zastosowanie w diagnostyce chorób koni. W zapaleniu ich stężenie we krwi wzrasta do 10 razy i utrzymuje się na podwyższonym poziomie do kilku tygodni po jego ustąpieniu. Często nie obrazują aktualnego stanu zdrowia i mają wątpliwe zastosowanie w monitorowaniu zmian w przebiegu zapalenia. Oprócz reakcji ostrej fazy, na stężenie

fibrynogenu i haptoglobiny we krwi wpływają także inne czynniki, związane z peńnionymi przez nie funkcjami biologicznymi. Fibrynogen można oznaczyć w warunkach klinicznych za pomocą łatwych w stosowaniu testów, podczas gdy badania haptoglobiny i białka C-reaktywnego ograniczone są do bardziej skomplikowanych technik laboratoryjnych, używanych głównie w badaniach naukowych. α_1 -kwaśna glikoproteina i ceruloplazmina u koni mają niewielkie znaczenie i oznaczane są głównie dla celów naukowych. Badanie zmian stężeń białek ostrej fazy w płynie otrzewnowym może ułatwić ocenę stanu zdrowia koni z objawami morzyskowymi i podjęcie decyzji o leczeniu operacyjnym oraz wykrywanie powikłań po zabiegach chirurgicznych wykonywanych na jamie brzusznej.

Piśmiennictwo

- Davalos D., Akassoglou K.: Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Semin. Immunopathol.* 2012, **34**, 43–62.
- Campbell M. D., Bellamy J.E., Searcy G.P.: Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. *Am. J. Vet. Res.* 1981, **42**, 100–104.
- Pollock P.J., Prendergast M., Schumacher J., Bellenger C.R.: Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. *Vet. Rec.* 2005, **156**, 538–542.
- Cray C.: Acute phase proteins in animals. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2012, **105**, 113–150.
- Hulten C., Demmers S.: Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet. J.* 2002, **34**, 693–698.
- Hulten C., Sandgren B., Skjöldebrand E., Klingeborn B., Marhaug G., Forsberg M.: Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alfa2-globulins during induced non-infectious arthritis in the horse. *Acta Vet. Scand.* 1999, **40**, 323–333.
- Giguere S., Hernandez J., Gaskin J., Miller C., Bowman J.L.: Evaluation of white blood cell concentration, plasma fibrinogen concentration, and an agar gel immunodiffusion test for early identification of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, **222**, 775–781.
- Topper M.J., Prasse K.W.: Analysis of coagulation proteins as acute-phase reactants in horses with colic. *Am. J. Vet. Res.* 1998, **59**, 542–545.
- Gentry P. A., Feldman B.F., Liptrap L.M.: Haemostasis and partition revisited: comparative profiles in mammals. *Comp. Haematol. Int.* 1991, **1**, 150–154.
- Koterba A. M., Drummond W.H., Kosch P.C.: *Equine Clinical Neonatology*. Lea & Febiger, 1990.
- Copas V.E., Durham A.E., Stratford C.H., McGorum B.C., Waggett B., Pirie R.S.: In equine grass sickness, serum amyloid A and fibrinogen are elevated, and can aid differential diagnosis from non-inflammatory causes of colic. *Vet. Rec.* 2013, **172**, 395.
- Jacobsen S., Nielsen J.W.: Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: a preliminary study. *Vet. Surg.* 2009, **38**, 762–769.
- Borges A.S., Divers T.J., Stokol T., Mohammed O.H.: Serum iron and plasma fibrinogen concentrations as indicators of systemic inflammatory diseases in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 2007, **21**, 489–494.
- Dallap Shaer B. L., Epstein K.: Coagulopathy of the critically ill equine patient. *J. Vet. Emerg. Critic. Care* 2009, **19**, 53–65.
- Dallap B. L., Dollente B.A., Boston R.C.: Coagulation profiles in 27 horses with large colon volvulus. *J. Vet. Emerg. Critic. Care* 2003, **13**, 215–225.
- Dollente B. A., Wilkins P.A., Boston R.C.: Clinicopathologic evidence of disseminated intravascular coagulation in horses with acute colitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2002, **220**, 1034–1038.
- Palareti G., Maccaferri M., Manotti C., Tripodi A., Chantarangkul V., Rodeghiero F., Ruggeri M., Mannucci P.M.:

- Fibrinogen assays: a collaborative study of six different methods. *Clin. Chem.* 1991, **37**, 714-719.
18. Alayash A.L.: Haptoglobin – old protein with a new function. *Clin. Chim. Acta* 2011, **412**, 493-498.
 19. Eaton W.J., Brandt P., Mahoney J.R.: Haptoglobin: a natural bacteriostat. *Science* 1982, **215**, 691-693.
 20. Quayle L.K.: Haptoglobin, inflammation and disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2008, **102**, 735–774.
 21. Cid M.C., Grant D.S., Hoffman D.S., Auerbach R., Fauci A.S., Klienman H.K.: Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J. Clin. Invest.* 1993, **91**, 977-985.
 22. Taira T., Fujinaga T., Okumura M., Yamashita K., Tsunoda N., Mizuno S.: Equine haptoglobin: isolation, characterization and the effect of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration. *J. Vet. Med. Sci.* 1992, **54**, 435-442.
 23. Fazio F., Assenza A., Tosto E., Casella S., Piccione G., Caola G.: Modifications of some acute phase proteins and the white blood cell count in thoroughbreds during training. *Vet. Rec.* 2010, **167**, 370-373.
 24. Lavoie-Lamoureux A., Leclere M., Lemmas K., Wagner B., Lavoie J.P.: Markers of systemic inflammation in horses with heaves. *J. Vet. Intern. Med.* 2012, **26**, 1419-1426.
 25. Milne E.M., Doxey D.L., Kent J.E., Pemberton A.: Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia). *Res. Vet. Sci.* 1991, **50**, 273-278.
 26. Miller M.S., Moritz A., Röcken M., Litzke L.F.: Evaluation of serum amyloid A, haptoglobin and fibrinogen as inflammatory markers after castration of stallions. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere* 2007, **1**, 69-74.
 27. Eurell T.E., Wilson D.A., Baker G.J.: The Effect of Exploratory Laparotomy on the Serum and Peritoneal Haptoglobin Concentrations of the Pony. *Can. J. Vet. Res.* 1993, **56**, 42-44.
 28. Kent J.E., Goodall J.: Assessment of an immunoturbidimetric method for measuring equine serum haptoglobin concentration. *Equine Vet. J.* 1991, **23**, 59-66.
 29. Pellegrini Masini A., Tedeschi D., Baragli P., Sighieri C., Lubas G.: Exercise-induced intravascular haemolysis in standardbred horses. *Comp. Clin. Path.* 2003, **12**, 45-48.
 30. Hanzawa K., Hiraga A., Yoshida Y., Hara H., Kai M., Kubo K., Watanabe S.: Effects of Exercise on plasma haptoglobin composition in control and splenectomized thoroughbred horses. *J. Eq. Sci.* 2002, **13**, 89-92.
 31. Cywińska A., Szarska E., Kowalska A., Ostaszewski P., Schollenberger A.: Gender differences in exercise – induced intravascular haemolysis during race training in thoroughbred horses. *Res. Vet. Sci.* 2011, **90**, 133-137.
 32. Scopetta F., Tartaglia M., Renzone G., Avellini L., Gaiti A., Scaloni A., Chiaradia E.: Plasma protein changes in horse after prolonged physical exercise. *J. Proteomics* 2012, **75**, 4494-4504.
 33. Wiedmayer C.E., Solter P.F.: Validation of human haptoglobin immunoturbidimetric assay for detection of haptoglobin in equine and canine serum and plasma. *Vet. Clin. Pathol.* 1996, **25**, 141-146.
 34. Gabay C., Kushner I.: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1999, **340**, 448-454.
 35. Takiguchi M., Fujinaga T., Naiki M., Mizuno S., Otomo K.: Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from horses. *Am. J. Vet. Res.* 1990, **51**, 1215-1220.
 36. Yamashita K., Fujinaga T., Okumura M., Takiguchi M., Tsunoda N., Mizuno S.: Serum C-reactive protein (CRP) in horses: the effect of aging, sex, delivery and inflammations on its concentration. *J. Vet. Med. Sci.* 1991, **53**, 1019-1024.
 37. McDonald T.L., Larson M.A., Mack D.R., Weber A.: Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2001, **83**, 203-211.
 38. Schroedl W., Jaekel L., Krueger M.: C-reactive protein and antibacterial reactivity in blood plasma of colostrum-fed calves and the effect of lactulose. *J. Dairy Sci.* 2003, **86**, 3313-3320.
 39. Cywińska A., Szarska E., Górecka R., Witkowski L., Heold M., Bereznowski A., Schollenberger A., Winnicka A.: Acute phase protein concentrations after limited distance and long distance endurance rides in horses. *Res. Vet. Sci.* 2012, **93**, 1402-1406.
 40. Tugirimana P.L., De Clercq D., Holderbeke A.L., Kint J.A., De Cooman L., Deprez P., Delanghe J.R.: A functional turbidimetric method to determine C-reactive proteins in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2011, **23**, 308-311.
 41. Taira T., Fujinaga T., Tamura K., Izumi M., Itoh H., Tsunoda N., Yamashita K., Okumura M., Mizuno S.: Isolation and characterization of alpha 1-acid glycoprotein from horses, and its evaluation as an acute-phase reactive protein in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 961-965.
 42. di Filippo P.A., Nogueira A.F.S., Santana A.E.: Determination of serum haptoglobin, ceruloplasmin, alpha 1-acid glycoprotein, transferrin and alpha 1-antitrypsin in colic horses. *Ciencia Rural* 2011, **41**, 2108-2113.
 43. Son D.S., Hariya S., Shimoda M., Kokue E.: Contribution of alpha 1-acid glycoprotein to plasma protein binding of some basic antimicrobials in pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996, **19**, 176-183.
 44. Fournier T., Medjoubi-N N., Porquet D.: Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta* 2000, **1482**, 157-171.
 45. Moore D.F., Rosenfeld M.R., Gribbon P.M., Winlove C.P., Tsai C.M.: Alpha-1-acid (AAG, orosomucoid) glycoprotein: interaction with bacterial lipopolysaccharide and protection from sepsis. *Inflammation* 1997, **21**, 69-82.
 46. Yahamshoji S., Kajimoto G.: Antioxidant effect of ceruloplasmin on microsomal lipid peroxidation. *FEBS Lett.* 1983, **152**, 168-170.
 47. Okumura M., Fujinaga T., Yamashita K., Tsunoda N., Mizuno S.: Isolation, characterization and quantitative measurement of ceruloplasmin from horse. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 1979-1985.
 48. Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C.: *Equine Internal Medicine*. 2nd ed., Elsevier 2004.
 49. Pihl T.H., Andersen P.H., Kielgaard-Hansen M., Mørck N.B., Jacobsen S.: Serum amyloid A and haptoglobin concentrations in serum and peritoneal fluid of healthy horses and horses with acute abdominal pain. *Vet. Clin. Pathol.* 2013, **42**, 177-183.
 50. Cowell R.L., Tyler R.D.: *Diagnostic Cytology and Haematology of the Horse*. 2nd ed., Mosby 2007.
 51. Grosche A., Schrödl W., Schusser G.F.: Specific parameters of blood and peritoneal fluid to indicate the severity of intestinal ischaemia in colic horse. *Tierärztliche Praxis* 2006, **34**, 387-396.
 52. Watts, A.E., Fubini S.L., Todhunter R.J., Brooks M.B.: Comparison of plasma and peritoneal indices of fibrinolysis between foals and adult horses with or without colic. *Am. J. Vet. Res.* 2011, **72**, 1535-1540.
 53. Hanson R.R., Nixon A.J., Gronwall R., Meyer D., Pendergast J.: Evaluation of peritoneal fluid following intestinal resection and anastomosis in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 216-221.
 54. Baxter G.M., Parks A.H., Prasse K.W.: Effects of exploratory laparotomy on plasma and peritoneal coagulation/fibrinolysis in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**, 1121-1127.
 55. Nunokawa Y., Fujinaga T., Taira T., Okumura M., Yamashita K., Tsunoda N., Hagio M.: Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-reactive protein in horses. *J. Vet. Med. Sci.* 1993, **55**, 1011-1016.
 56. Jacobsen S., Niewold T.A., Halling-Thomsen M., Nanni S., Olsen E., Lindegaard C., Andersen P.H.: Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **110**, 325-330.