

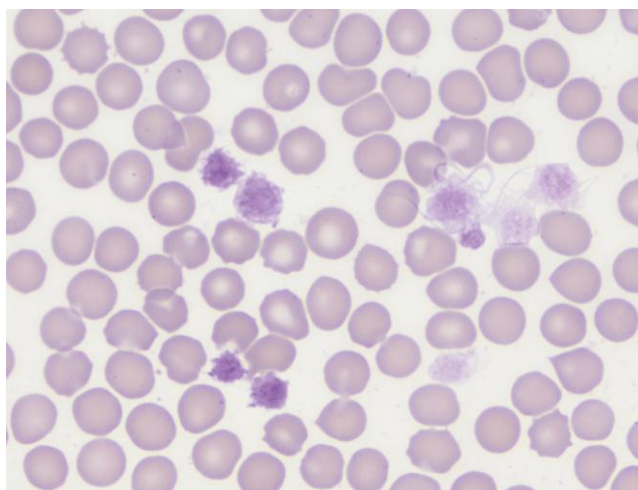
## Trombocyty u koní

### Krvné doštičky

Krvné doštičky, nazývané aj trombocyty, sú dôležitou súčasťou koagulácie krvi. Sú to bezjadrové, ploché, nepravidelne okrúhle, oválne alebo predĺžené bunky a majú svetlomodrú cytoplazmu, ktorá môže obsahovať jemné, azurofilné granuly.<sup>1</sup> V aktivovaných krvných doštičkách môžu byť viditeľné takzvané pseudopódie. Krvné doštičky sa tvoria v kostnej dreni.

Megakaryocyty sa diferencujú z bipotentných megakaryocyto-erytrocytárnych prekursorov.

Pri fragmentácii sa tvoria makrotrombocyty (obr. 1) a doštičky.<sup>2</sup>



**Obr. 1:** Makrotrombocyty, zväčšenie 1000x, imerzný olej, farbenie Giemsa

Zdroj: Laboklin

Priemerná doba prežitia krvných doštičiek v periférnej krvi sa v závislosti od literatúry uvádza 3 – 9 dní.<sup>1</sup>

V porovnaní s ostatnými cicavcami majú kone jedny z najnižších počtov krvných doštičiek.<sup>1</sup>

V krvnom nátere postačuje 6 – 10 krvných doštičiek na zorné pole (1000-násobné zväčšenie s imerzným olejom) na dostatočný počet krvných doštičiek. V závislosti od literatúry sa referenčný rozsah pohybuje medzi 90 – 350 G/l (Laboklin 90 – 300 G/l).

### Predanalytika

Predanalytika hrá dôležitú úlohu v spoľahlivosti laboratórnych diagnostických nálezov. To však platí pre všetky hematologické parametre, nielen pre krvné doštičky. Nesprávny odber krvi, príliš veľký tlak alebo nesprávne poradie pri plnení skúmaviek môže viesť k aktivácii krvných doštičiek. To často vedie k menším alebo väčším zrazeninám, ktoré môžu narušiť analýzu alebo ju dokonca znemožniť. Odber krvi je najlepšie realizovať v bezstresových podmienkach a nie po námahe (tréningu). Je potrebné sa vyhýbať nadmernému tlaku. Čo sa týka poradia skúmaviek, v ideálnom prípade by mala byť sérová skúmavka naplnená ako prvá a skúmavka s EDTA ako posledná. Ak sa odoberá iba EDTA krv, prvé kvapky krvi by sa mali nechať odtiecť preč. U koní je počet krvných doštičiek vcelku nezávislý od podmienok skladovania až do 24 hodín od odberu krvi.<sup>3</sup> Počet trombocytov sa musí stanoviť z plnej krvi s antikoagulantom. Pri porovnaní antikoagulantov EDTA (kyselina K3-etyléndiami-nooctová), lítium heparínu a citrátu sodného, výrazné odchýlky parametrov trombocytov pozorujeme v heparínovej krvi.<sup>3</sup>

Použitie heparínu ako antikoagulantu malo za následok zvýšenú tvorbu agregátov krvných doštičiek, a preto boli namerané falošne nízke hladiny krvných doštičiek.<sup>4</sup> EDTA je najvhodnejším antikoagulantom na rozbor krvi.<sup>4</sup> Avšak u koní bola popísaná aj EDTA indukovaná pseudotrombocytopenia so zvýšenou tvorbou agregátov krvných doštičiek.<sup>7</sup> Zníženie počtu agregátov možno dosiahnuť rýchlym meraním do 2 hodín po odbere krvi a zahriatím vzorky na 37 °C pred meraním.<sup>8</sup> EDTA je antikoagulant voľby pre stanovenie počtu krvných doštičiek. Krv by sa mala analyzovať do 24 hodín a podľa možnosti skladovať chladená.

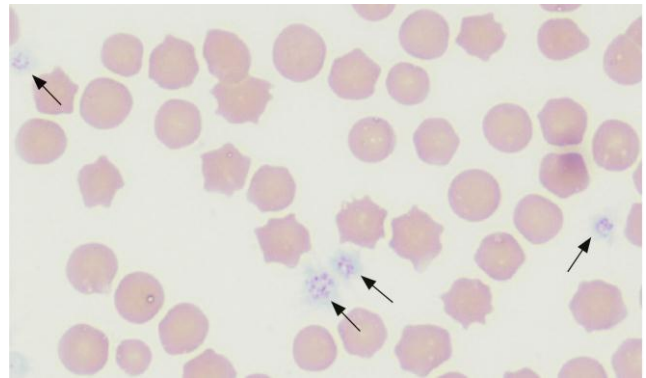
Tip: Vzorok krvi vo výjazdovom aute umiestnite do polystyrénového boxu, aby ste ich ochránili pred teplom a mrazom!

### Laboratórna diagnostika

Počty krvných doštičiek sú zvyčajne zahrnuté v každom kompletnom krvnom obraze. Je možné si ich vyžiadať aj samostatne. Okrem toho by ste mali vždy zhotoviť krvný náter priamo pred alebo po meraní krvných doštičiek. Náter sa suší na vzduchu a potom farbí. Môžete použiť napríklad farbenie Wright-Giemsa alebo Diff-Quik (obr. 2a a 2b).

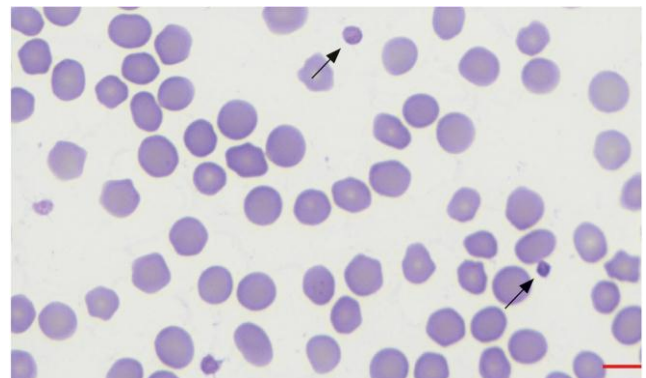
Pre vyhodnotenie krvného náteru je potrebná podrobná anamnéza (napr. kontakt s vírusovými, bakteriálnymi a parazitárnymi infekčnými pôvodcami, horúčka, gastrointestinálne príznaky, respiračné príznaky) a podrobné klinické vyšetrenie pacienta.

Mikroskopické vyšetrenie krvných doštičiek sa najskôr robí pri 100-násobnom zväčšení (objektív 10x). Zástavku vyšetrujeme na prítomnosť agregátov trombocytov. Trombocyty potom počítame v monolayeri pri zväčšení 1000x (objektív 100x). Pri výpočte približného počtu trombocytov priemer z desiatich zorných polí vynásobíme 15-20. Do úvahy musíme brať aj agregáty zo zástavky. Krvný náter, ako je na obrázku 3, môžeme použiť pre hľadanie agregátov alebo potvrdenie trombocytopenie, ak sú namerané hodnoty trombocytov nízke. Napríklad, v desiatich zorných poliach sme napočítali 98 krvných doštičiek. Priemer na jedno pole je 9,8. Počet zaokrúhlime na 10 a vynásobíme 15. Tak dostaneme približný počet trombocytov koňa 150 G/l. Hrubé odhady agregátov pridáme do výpočtu.



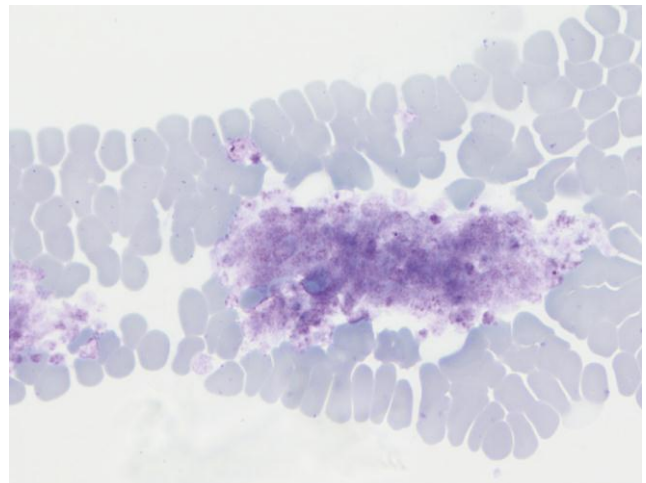
**Obr. 2a:** Erythrocyty a trombocyty (čierne šípky), farbenie Giemsa, zväčšenie 1000x, imerzný olej

Zdroj: Laboklin



**Obr. 2a:** Erythrocyty a trombocyty (čierne šípky), farbenie Diff-Quik, zväčšenie 1000x, imerzný olej

Zdroj: Laboklin



**Obr.3:** Veľké agregáty trombocytov v zástavke krvného náteru. Počet trombocytov v agregáte nie je možné stanoviť. Zväčšenie 100x, farbenie Diff-Quik

Zdroj: Laboklin

Ak sa trombocytopenia potvrdí krvným náterom, odporúčajú sa ďalšie vyšetrenia v závislosti od klinickej anamnézy a suspektnej diagnózy, napr.

- PCR testy: napr. babézia, anaplazma
- testy na koaguláciu: PT, aPTT, trombinový čas, fibrinogén

- sérologické testy: napr. infekčná anémia koní (EIA), herpesvírus koní (EHV)
- hematológia: protilátky proti trombocytom
- biopsia a cytológia kostnej drene, pokiaľ je potrebná.

### Trombocytopenia

Vo väčšine prípadov je trombocytopenia u koní náhodným nálezom. Trombocytopenia je pokles počtu krvných doštičiek pod normu stanovenú pre druh zvieratá.<sup>9</sup> Trombocytopenia zvyčajne indikuje patologický proces, ktorý môže viesť k poruchám koagulácie, keď je počet krvných

doštičiek výrazne znížený.<sup>10</sup> Často existuje viac ako jedna príčina trombocytopenie.<sup>12</sup> Je potrebné odlišiť pseudotrombocytopeniu a skutočnú trombocytopeniu. K pseudotrombocytopenii dochádza, keď do počtu trombocytov nie sú započítané všetky krvné doštičky. Preto sa ako prvý kontrolný mechanizmus pri trombocytopenii odporúča mikroskopické vyšetrenie. Dôvody skutočnej trombocytopenie sú znížená produkcia v kostnej dreni, zvýšená spotreba, deštrukcia trombocytov alebo zvýšená sekvestrácia (tab.1).<sup>10,11</sup>

**Tabuľka 1:** Prehľad príčin trombocytopenie<sup>10,11</sup>

Príčina		
<b>Trombocytopenia</b>	pseudotrombocytopenia	obmedzenia meraní <ul style="list-style-type: none"> <li>• agregácia trombocytov pri ich aktivácii</li> <li>• makrotrombocyty</li> <li>• EDTA-indukovaná (veľmi vzácne)</li> </ul>
	znížená produkcia v kostnej dreni	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aplázia kostnej drene</li> <li>• megakaryocytárna leukémia</li> <li>• myelofibróza</li> <li>• myelonekróza</li> <li>• metastázy</li> <li>• medikácia</li> <li>• toxíny</li> <li>• radiácia</li> <li>• genetická</li> </ul>
	zvýšená spotreba	<ul style="list-style-type: none"> <li>• závažné krvácanie</li> <li>• disseminovaná intravaskulárna koagulácia (DIC)</li> <li>• hemolyticko uremický syndróm (HUS)</li> <li>• neoplázia</li> </ul>
	deštrukcia trombocytov	imunitne sprostredkovaná deštrukcia <ul style="list-style-type: none"> <li>• primárna               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ imunitne sprostredkovaná trombocytopenia</li> </ul> </li> <li>• sekundárna               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ infekčné ochorenia</li> <li>○ neoplázia</li> <li>○ medikácia</li> <li>○ alloimúnna trombocytopenia</li> </ul> </li> <li>• Evansov syndróm</li> </ul> nie imunitne sprostredkovaná deštrukcia <ul style="list-style-type: none"> <li>○ infekčné ochorenia               <ul style="list-style-type: none"> <li>• vírusy</li> </ul> </li> <li>○ medikácia</li> <li>○ heparinom indukovaná</li> <li>○ toxíny</li> <li>○ uhryznutie hadom</li> </ul>
	sekvestrácia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• splenomegália</li> <li>• vážna hypotermia</li> <li>• endotoxémia</li> </ul>

### Klinické príznaky trombocytopenie

Vo väčšine prípadov sa trombocytopenia objavuje sekundárne pri mnohých primárnych ochoreniach.<sup>12</sup>

Klinické príznaky zvyčajne zodpovedajú primárnemu ochoreniu. Vo všeobecnosti, príznaky sú pri nevýraznej až miernej trombocytopenii (30 – 90 G/l) vzácné, pokiaľ nie je zároveň narušená sekundárna hemostáza.

Závažná trombocytopenia (< 30 G/l) vedie k zmenám v primárnej hemostáze.<sup>13,14</sup>

U pacientov sa objavujú petechie a ekchymózy, ktoré pozorujeme hlavne na slizniciach a sklére. Bola popísaná aj zvýšená epistaxia. Po odbere krvi je krvácanie predĺžené.

### **Trombocytóza**

Trombocytóza je definovaná ako zvýšenie počtu doštičiek cirkulujúcich v periférnej krvi nad referenčné rozmedzie pre daný druh zvieratá. Podobne ako pri pseudotrombocytopenii je potrebné rozlíšiť pseudotrombocytózu a skutočnú trombocytózu (tab. 2).

O pseudotrombocytóze hovoríme, keď sú iné bunky počítané ako trombocyty. Môže ísť o malé alebo lyzované erytrocyty. Pomôže nám vyhodnotenie scatterogramov a krvných náterov.

Nevýrazná, fyziologická trombocytóza sa často objavuje počas a po cvičení alebo vzrušení (napr. stres pri odbere krvi). Je spôsobená kontrakciou sleziny, z ktorej sa skladované krvné doštičky uvoľnia do obehu.<sup>18,19</sup>

Skutočná trombocytóza môže byť rozdelená na primárnu a sekundárnu. Vo väčšine prípadov je zvýšenie počtu trombocytov pri sekundárnej trombocytóze len nevýrazné alebo mierne (300 – 500 G/l), zatiaľ čo pri primárnej trombocytóze je veľké. Okrem toho, primárna trombocytóza je častejšie spojená s klinickým krvácaním a trombózou.<sup>20,21,22</sup>

Sekundárna trombocytóza sa väčšinou vyskytuje pri zápaloch a infekciách.<sup>24</sup>

### **Záver**

Počet trombocytov je súčasťou takmer každého krvného obrazu a môže indikovať prítomné ochorenie. V každom prípade, spoľahlivosť danej hodnoty musí byť potvrdená manuálne mikroskopicky. Príčinu trombocytopenie alebo trombocytózy musíme potom hľadať na základe podrobnej anamnézy a dôkladného klinického vyšetrenia.

Dr. med. vet. Annemarie E. Baur-Kaufhold

**Tabuľka 2:** Prehľad príčin trombocytózy<sup>11,22,23</sup>

Príčina		
<b>Trombocytóza</b>	pseudotrombocytóza	obmedzenia meraní
	redistribúcia trombocytov	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lyzované erytrocyty („duchovia“)</li> </ul>
	zvýšená tvorba v kostnej dreni	<ul style="list-style-type: none"> <li>• cvičenie</li> <li>• katecholamíny</li> </ul>
	neoplázia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• zápal               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ infekcia</li> <li>○ imunitne sprostredkovaný</li> <li>○ chirurgická intervencia</li> <li>○ trauma</li> <li>○ nehematopoetické neoplázie</li> </ul> </li> <li>• deficit železa</li> <li>• zotavenie sa z trombocytopenie (rebound)</li> <li>• splenektómia (post)</li> <li>• hemorágie</li> </ul>

Literatúra: Literatúra je dostupná na vyžiadanie