

## Thrombocytopenia in Cavalier King Charles spaniels

Żmigrodzka M., Winnicka A., Division of Animal Pathophysiology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

The aim of this study was to determine the prevalence of macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles spaniels (CKCS) population in Poland. CKCS is a breed predisposed to this disorder of blood platelets. The study was performed in 42 clinically healthy CKCSs and in 30 control dogs of different breeds. Platelets count was obtained using automated system, impedance cell counter. Collected blood samples were treated with EDTA or citrate as anticoagulants. Blood smears were examined for platelets morphology, satellitism and platelet clumps. Serum biochemistry was performed to identify renal or liver disease related thrombocytopenia. Platelet count was significantly lower and platelet volume was significantly higher in CKCSs when compared with control dogs: ( $p < 0.05$ ) and ( $p < 0.01$ ), respectively. Also serum magnesium concentration was lower in CKCSs than in the controls ( $p < 0.05$ ). Comparing the influence of anticoagulant on platelet blood count in CKCSs, it was found that values obtained with EDTA were higher than with citrate. It enables to eliminate pseudothrombocytopenia EDTA-dependent. It has been concluded that macrothrombocytopenia occurred in 90% of examined CKCSs.

**Keywords:** platelet count, platelet volume, anticoagulants, pseudothrombocytopenia, macrothrombocytopenia, magnesium concentration.

W badaniu hematologicznym zdrowych psów niektórych ras, np. u cavalier king charles spanieli (CKCS), a także ogarów polskich, chartów angielskich i owczarków niemieckich, może wystąpić trombocytopenia, w zakresie  $50\text{--}200 \times 10^9/l$  (1, 2, 3, 4, 5, 6). Małopłytkowość ta często nie ma żadnych określonych przyczyn, ani wyraźnych następstw w postaci zaburzeń krzepnięcia (7, 8, 9). W celu potwierdzenia jej pierwotnego charakteru należy

## Trombocytopenia u cavalier king charles spanieli

Magdalena Żmigrodzka, Anna Winnicka

z Zakładu Patofizjologii Zwierząt, Katedry Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

zawsze wykluczyć występowanie pseudothrombocytopenii, chorób ogólnoustrojowych, w tym niewydolności wątroby i nerek, a także małopłytkowości tła immunologicznego. Badania przeprowadzone przez Cowan i wsp. (1), Singh i wsp. (2) oraz Brown i wsp. (10) wykazały małopłytkowość u cavalier king charles spanieli zarówno w Europie, jak i w Australii. Małopłytkowości tej towarzyszył znaczny odsetek płytek olbrzymich.

U ludzi małopłytkowość wrodzona, dziedziczona autosomalnie dominująco, zaliczana jest do tzw. wrodzonego zespołu płytek olbrzymich (inherited giant platelet disorders – IGDP) i opisywana jest jako: anomalia May-Hegglina, wrodzona makrotrombocytopenia lub zespół Fechtnera. Choroby te spowodowane są zaburzeniami agregacji i aktywacji płytek krwi, co wywołuje objawy kliniczne typowe dla krwotocznych szkazy płytkowych (11, 12). U psów także rozpoznawane są choroby wrodzone wynikające z zaburzeń funkcji płytek, czyli trombopatie (13, 14, 15; **tab. 1**). Nie wszystkim wrodzonym trombopatiom towarzyszy małopłytkowość, co czyni je chorobami trudniejszymi do rozpoznania. Małopłytkowość (nieznaczna do ciężkiej) obserwowana jest tylko w trombastenii Glazmanna i cyklicznej hemato-pozie u szarych owczarków szkockich collie (13, 14, 16).

W medycynie odnotowano liczne przypadki zaniżenia liczby płytek w pomiarze automatycznym w porównaniu do ich rzeczywistej wartości (17, 18, 19). Przyczyn pseudothrombocytopenii (małopłytkowości rzekomej) można się doszukiwać w powstawaniu zlepek płytkowych w próbkę

złe pobranego materiału, obecności licznych płytek olbrzymich, a także w zjawisku satelityzmu płytkowego (20, 21, 22, 23, 24). U psów dopiero w 2008 r. Wills i Wardrop (25) opisali trombocytopenię zależną od EDTA, wynikającą z działania zimnych aglutynin. Wcześniej opisano pseudothrombocytopenię u psów z chorobami nowotworowymi i posocznicą (26).

Celem podjętych badań było sprawdzenie, czy w populacji cavalier king charles spanieli w Polsce występuje wrodzona makrotrombocytopenia.

### Materiał i metody

Badaniami objęto psy, pacjentów Kliniki Małych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW i jednego z gabinetów weterynaryjnych w Warszawie, u których wykonywano okresowe lub diagnostyczne badania laboratoryjne krwi. Na podstawie wyników szczegółowych badań klinicznych i laboratoryjnych wybrano 72 klinicznie zdrowe psy, bez rozpoznanych zaburzeń krzepnięcia, w wieku od 7 miesięcy do 11 lat, nieleczone i nieszczepione w ciągu 4 tygodni poprzedzających badanie. Grupa kontrolna składała się z 30 psów (mieszkańce, sznauce średnie i miniaturowe, pudle i charty angielskie), a badana z 42 cavalier king charles spanieli, u których liczba płytek krwi we krwi wersenianowej była mniejsza niż  $200 \times 10^9/l$ . Wśród przebadanych CKCS u 5 osobników liczba płytek była wyższa niż  $200 \times 10^9/l$ . Psów tych nie zakwalifikowano do dalszych badań.

Pobieranie krwi do badania płytek wymagało ostrożnego postępowania zarówno

z pacjentem, jak i z materiałem biologicznym, dlatego przestrzegano, aby psy były na czczo, niekarmione przez ostatnie 12 godzin. Krew była pobierana wyłącznie od zwierząt niezmeńczonych i niepobudzonych, a materiał pobierano z żyły odpromieniowej, po lekkim uciśnięciu jej palcami. Zbierano krew swobodnie wypływającą za pierwszym wkłuciem (średnica igły 0,9 lub 1,1 mm), pierwszy mililitr krwi pobierano do próbki biochemicznej, a kolejne krople pobierano do próbki z wersenianem potasowym (EDTA-3K; Medlab, Polska) i cytrynianem sodowym (0,1 mmol/l; Medlab, Polska). Krew bezpośrednio po pobraniu do próbek była delikatnie mieszana z antykoagulantem i przechowywana nie dłużej niż 20 minut w temperaturze pokojowej (8, 27).

### Badanie hematologiczne

Krew obwodowa (wersenianowa i cytrynianowa) była badana metodą rutynową w analizatorze hematologicznym o pomiarze impedancyjnym (Abacus, Francja). Dokonano pomiarów parametrów układu czerwono- i białokrwinkowego oraz liczbę płytek krwi i ich średnią objętość oraz hematokryt płytkowy. Oceniano również rozmazy krwi barwione metodą Pappenhaima, odczynnikami May-Grünwalda i Giemsa (MGG) w mikroskopie Olympus. W małym powiększeniu ( $\times 250$ ) kontrolowano występowanie zlepek płytkowych, a w powiększeniu 1000-krotnym oceniano liczbę płytek w standardowym polu widzenia oraz ich morfologię, w tym liczbę makropłytek z widocznymi ziarnistościami i wypustkami oraz zjawisko satelityzmu płytkowego (3, 10, 20).

### Badanie biochemiczne

Badania biochemiczne wykonywano w surowicy uzyskanej przez wirowanie krwi pobranej na skrzep przez 8 min przy 250 g. Surowica badana była wolna od hemolizy i lipemii. Oznaczano aktywność aminotransferaz asparaginowej (AST) i alaninowej (ALT) oraz stężenie magnezu i mocznika (analizator Pointe-180, POINTE SCIENCE, Polska).

Do analizy wyników użyto pakietów statystycznych: statystyka opisowa i testy nieparametryczne porównujące badane grupy – Statistica 6.0.

### Wyniki

Wyniki badań hematologicznych, z zastosowaniem wersenianu potasowego (EDTA-3K), u psów z grupy kontrolnej

i CKCS przedstawiono w tabeli 2. Wartości średnie wyników badań psów z grupy kontrolnej mieściły się w zakresach wartości referencyjnych (8), natomiast wartości minimalne i maksymalne wyników badania układu czerwono- i białokrwinkowego, nie różniły się od wartości referencyjnych przyjętych dla poszczególnych ras psów (4, 5, 28). Zarówno liczba płytek krwi oraz hematokryt płytkowy, jak i liczba erytrocytów oraz stężenie hemoglobiny w krwince u CKCS były niższe w porównaniu do psów z grupy kontrolnej. Natomiast średnia objętość płytek krwi u CKCS, a także liczba leukocytów były wyższe niż u psów z grupy kontrolnej.

Wyniki badania płytek we krwi pełnej wersenianowej i cytrynianowej CKCS przedstawiono w tabeli 3. Oznaczenie liczby płytek w materiale pobranym na dwa antykoagulanty miało na celu wykluczenie

Tabela 1. Wrodzone trombopatie u psów

Choroba i predylekcje rasowe	Sposób dziedziczenia	Przyczyna
Choroba von Willebranda (wiele ras psów)	AD	obniżone stężenie lub brak multimerów czynnika von Willebranda
Trombastenia Glazmanna typ III (owczarek pirenejski, otterhound)	AD	brak lub obniżona liczba receptorów GPIIb/IIIa na powierzchni błony komórkowej trombocyty
Cykliczna hematopoeza szarych owczarków collie	AD	mutacja genu kodującego kompleks białkowy $\beta 1$ odpowiedzialny za transport białek z aparatu Golgiego do ziarnistości; brak ziarnistości gęstych, brak retrakcji skrzepu
Choroba puli magazynowej (amerykański cocker spaniel)	NZ	nieznana; brak agregacji pod wpływem kolagenu i ADP; nieprawidłowy stosunek ATP/ADP w płytce krwi
Wrodzona trombopatia basetów	AD	nieznana; prawdopodobnie nieprawidłowy metabolizm jonów wapnia

Objaśnienia: AD – autosomalny dominujący, NZ – nieznan, GP – glikoproteina

Tabela 2. Wyniki badania hematologicznego pełnej krwi wersenianowej (EDTA-3K) psów z grupy kontrolnej i cavalier king charles spanieli

Badany parametr	Krew pełna wersenianowa (EDTA-3K)							
	psy z grupy kontrolnej (n=30)				cavalier king charles spaniele (n= 42)			
	min.	maks.	średnia	$\pm$ SD	min.	maks.	średnia	$\pm$ SD
RBC ( $10^{12}/l$ )	5,50	9,04	7,18	0,80	4,56	7,83	6,58**	0,70
HGB (g/dl)	11,90	19,40	16,43	1,37	12,5	16,70	15,20***	1,00
Ht (l/l)	0,36	0,57	0,49	0,04	0,32	0,49	0,43	0,05
MCV (fl)	61,00	71,00	66,76	2,51	64,00	80,00	67,76	3,02
MCH (pg)	19,90	24,20	22,84	1,19	21,40	29,50	23,91	1,71
MCHC (g/dl)	32,40	36,20	34,00	1,00	31,50	41,20	35,40	2,17
WBC ( $10^9/l$ )	3,50	15,20	8,86	2,76	5,82	24,8	15,50*	5,59
PLT ( $10^9/l$ )	210	518	282	68,70	5,00	191,00	94,42*	46,73
PCT (fl/ $\mu$ l)	1,7	3,7	2,5	0,5	0,00	2,10	0,68**	0,47
MPV(fl)	7,10	9,10	8,07	0,54	6,30	12,50	9,42**	1,40

Różnice istotnie statystyczne w porównaniu do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$

Objaśnienia: min. – wartość minimalna, maks. – wartość maksymalna, SD – odchylenia standardowe, RBC – krwinki czerwone, HGB – hemoglobina, Ht – hematokryt erytrocytów, MCV – średnia objętość krwinki czerwonej, MCH – średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej, MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej, WBC – krwinki białe, PLT – płytki krwi, PCT – hematokryt płytkowy, MPV – średnia objętość płytki krwi

**Tabela 3.** Wyniki badania płytek w pełnej krwi wersenianowej (EDTA-3K) i cytrynianowej (cytrynian sodowy) u cavalier king charles spanieli

Badany parametr	Krew pełna							
	wersenianowa (EDTA-3K)				cytrynianowa (cytrynian sodowy)			
	min.	maks.	średnia	±SD	min.	maks.	średnia	±SD
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	5,00	191,00	94,42	46,73	0,00	133,00	63,13***	39,22
PCT (fl/μl)	0,00	2,10	0,68	0,47	0,00	0,35	0,26***	0,10
MPV(fl)	6,30	12,50	9,42	1,40	0,00	10,90	8,47*	2,00

Różnice istotnie statystyczne w porównaniu do uzyskanych wartości we krwi wersenianowej przy: \*p<0,05, \*\*\*p<0,001.

Objaśnienia: min. – wartość minimalna, maks. – wartość maksymalna, SD – odchylenia standardowe, PLT – płytki krwi, PCT – hematokryt płytkowy, MPV – średnia objętość płytki krwi

**Tabela 4.** Wyniki badań biochemicznych w surowicy (x ±SD) u psów z grupy kontrolnej i u cavalier king charles spanieli

Parametr	Wyniki badań biochemicznych w surowicy	
	psy z grupy kontrolnej (n=30)	cavalier king charles spaniele (n=42)
AST (U/l)	27,18±8,40	26,43±6,93
ALT (U/l)	36,58±11,64	39,27±14,34
Mocznik (mg/dl)	34,97±12,53	32,90±7,23
Magnez (mg/dl)	1,85±0,20	1,46±0,17*

Różnice istotnie statystyczne w porównaniu do psów z grupy kontrolnej: \*p<0,05.

Objaśnienia: AST – aminotransferaza asparaginianowa, ALT – aminotransferaza alaninowa

występowania w grupie badanej trombocytopenii zależnej od EDTA. We krwi cytrynianowej liczba płytek krwi, ich hematokryt i średnia objętość płytki krwi były istotnie niższe niż wyniki uzyskane we krwi wersenianowej.

Wykonane podstawowe oznaczenie biochemiczne w surowicy psów z grupy kontrolnej i CKCS wykluczyły małopłytkowość, wynikającą z zapalenia wątroby i mocznicy, a także pozwoliły potwierdzić występowanie hipomagnezemii u CKCS (tab. 4).

### Omówienie wyników

Zjawisko małopłytkowości zostało opisane już u kilku ras psów. U ogarów polskich średnia liczba płytek krwi wynosi 157×10<sup>9</sup>/l (3), a u chartów angielskich waha się w zakresie 80–120×10<sup>9</sup>/l (4). W odróżnieniu jednak od innych ras, u chartów nie występują płytki olbrzymie i także inne są wartości prawidłowe wskaźników czerwonych oraz niektórych oznaczeń biochemicznych. Tłumaczone jest to sportowym użytkowaniem zwierząt przez pokolenia, co spowodowało uruchomienie mechanizmów adaptacyjnych do znacznego wysiłku (4, 5). Rodzinnie, małopłytkowość notowana jest u owczarków niemieckich oraz psów akita inu. U psów rasy cavalier king charles spaniel występuje małopłytkowość, której towarzyszy znaczny odsetek płytek olbrzymich (1, 2, 10, 29). W przebadanej populacji psów tej rasy w Szwecji i Danii częstość

występowania małopłytkowości wyniosła 31–56%, a w Australii aż 90%. Badania przeprowadzone przez Cowan i wsp. (10) wykazały małopłytkowość u 51% badanych CKCS i towarzyszącą jej makrotrombocytopenię u 33%. W badaniach Singha i Lamba (2) odsetek płytek olbrzymich wynosił 30, a u osobników z liczbą płytek poniżej 100×10<sup>9</sup>/l wzrósł aż do 70. W badaniach własnych u CKCS z liczbą płytek we krwi pełnej wersenianowej w zakresie 100–200×10<sup>9</sup>/l makrotrombocytopenia występowała u 66% psów, a z liczbą płytek poniżej 100×10<sup>9</sup>/l aż u 88%.

Występowanie makrotrombocytopenii jest jedną z przyczyn trombocytopenii rzekomej u ludzi. U osób zdrowych makropłytki mogą stanowić nawet do 10% wszystkich trombocytów, a u chorych z zespołem Bernard–Souliera nawet 60% (12, 30). Średnio objętość płytki olbrzymiej u człowieka przekracza 11 fl, ale może wynosić nawet 90 fl, podczas gdy w analizatorach hematologicznych pomiar płytek możliwy jest do objętości 30–35 fl (18, 31). Dlatego płytki olbrzymie rozpoznawane są przez analizator hematologiczny jako limfocyty, zawiązując tym samym ich liczbę, a zaniżając rzeczywistą liczbę płytek (32). Podobne wyniki uzyskano w badaniu własnym, gdzie u psów ze znacznie nasiloną małopłytkowością występował podwyższony odsetek limfocytów w pomiarze automatycznym, a tym samym u osobników tych liczba leukocytów była istotnie wyższa niż u psów w grupie kontrolnej.

W diagnostyce laboratoryjnej rutynowo używanym antykoagulantem do badań morfologicznych jest wersenian dwu- lub trójpotasowy, natomiast do oznaczeń koagulacyjnych i pomiaru odczynu Bierackiego – cytrynian sodowy. Działanie tych związków polega na chelatowaniu jonów wapnia, co zapobiega powstawaniu skrzepu (27, 32). Rzadziej wykorzystywanym antykoagulantem i tylko do badań gazometrycznych, są sole heparyny, których mechanizm przeciwkrzepliwego polega na hamowaniu przekształcenia protrombiny w trombinę. Heparyna nie znalazła zastosowania w hematologii ze względu na zmiany wielkości płytek krwi, tworzenie zlepek leukocytów w próbkach krwi oraz zmianę zabarwienia zwłaszcza erytrocytów w rutynowym barwieniu MGG w materiale pobranym na ten antykoagulant (19, 27, obserwacje własne). Badania przeprowadzone przez Thompsona i wsp. (19) wykazały, że użycie cytrynianu sodowego i heparyny u człowieka obniża liczbę krwinek białych i płytek krwi oraz ich średnią objętość w porównaniu do próbek pobranych na wersenian potasowy. W przeprowadzonym badaniu własnym liczba płytek we krwi cytrynianowej psa była istotnie niższa w porównaniu do ich liczby we krwi wersenianowej, co jest zgodne z wynikami Thompsona i wsp. (19). Pomiar liczby płytek u osobników z małopłytkowością we krwi cytrynianowej miał na celu wykluczenie pseudotrombocytopenii zależnej od wersenianu potasowego.

W medycynie pierwszy przypadek małopłytkowości zależnej od EDTA został opisany w 1969 r. (30). W obecności EDTA dochodzi do powstania agregatów płytkowych w pobranym materiale, podczas gdy we krwi pobranej od tego samego pacjenta na inny antykoagulant nie obserwuje się tego zjawiska. Powstawanie agregatów płytkowych jest wynikiem działania tzw. przeciwciał zimnych skierowanych przeciwko glikoproteinie GPIIb/IIIa błony komórkowej trombocytów. W zakresie temperaturze od 4 do 22°C ich aktywność biologiczna jest najsilniej wyrażona. Pod wpływem antykoagulantu GPIIb/IIIa

ulega zmianom konformacyjnym i staje się bardziej dostępna dla przeciwciał (30, 31, 32, 33, 34). Hipotezę tę potwierdziły badania u osób z trombastenią Glanzmanna, u których na powierzchni płytek ta glikoproteina nie występuje (23, 18, 22). Dodatkowo powstałe agregaty płytkowe są przyczyną pseudoleukocytozy, gdyż część automatów hematologicznych zlicza je, gdy objętość agregatu płytkowego jest większa niż 35 fl, jako limfocyty (30, 31).

W weterynarii po raz pierwszy zjawisko pseudotrombocytopenii zależnej od wersenianu opisane zostało przez Wills i Wardrop w 2008 r. (25). U 6-letniego labradora w badaniu hematologicznym wykazano znaczną małopłytkowość ( $20 \times 10^9/l$ ) oraz obecność zlepek płytkowych w rozmazie krwi. Pacjent nie wykazywał klinicznych objawów zaburzeń hemostazy. W powtórny badaniu krwi wersenianowej wynik był zbliżony ( $24 \times 10^9/l$ ), natomiast we krwi cytrynianowej wynosił  $394 \times 10^9/l$ . Wyniki ponownego badania tych samych próbek krwi (po 30, 60 i 120 minutach) przechowywanych w temperaturze pokojowej nie różniły się od pierwszego pomiaru, co pozwoliło stwierdzić, że u tego psa przyczyną małopłytkowości mogła być zmiana konformacji receptora dla fibrynogenu (GPIIb/IIIa) pod wpływem zimnych przeciwciał, co doprowadziło do agregacji płytek (25, 33, 34).

Wśród innych przyczyn pseudotrombocytopenii wymieniane jest zjawisko satelityzmu płytkowego, opisane po raz pierwszy w medycynie w 1963 r. (20, 21). Polega ono na wiązaniu się płytek we krwi wersenianowej, cytrynianowej, a nawet heparynowej (sole litu) z granulocytami obojętnochłonnymi i tworzeniu wokół nich charakterystycznych rozet. Przyczyna tego zjawiska upatrywana jest w obecności autoprzeciwciał przeciw GPIIb/IIIa błony komórkowej płytek oraz przeciw FcγRIII na neutrofilach (20, 21, 30, 35). Niektórzy autorzy dowodzą, że jest to wynik wzrostu ekspresji receptora selektywnego na powierzchni płytek w przebiegu ich aktywacji trombiną i kolagenem (21). Bez względu na mechanizm tworzenia rozet w pomiarze automatycznym dochodzi do zaliczania takich obiektów do granulocytów, co znacznie zaniża rzeczywistą liczbę płytek. W badaniach własnych nie stwierdzono tego zjawiska.

U wszystkich psów wykonano podstawowe oznaczenia biochemiczne w surowicy. Ocena aktywności enzymów wątrobowych miała na celu wykluczenie chorób wątroby, w przebiegu których dochodzi do zmian rozmieszczenia fosfolipidów błony komórkowej płytek, co doprowadza do jej destabilizacji. Zmniejszenie stabilności błony komórkowej płytek krwi i łatwiejsza ich aktywacja na skutek wzrostu ekspresji selektyny P na powierzchni błony

komórkowej obserwowane są w przebiegu niewydolności nerek. Aby wykluczyć mocznicę jako przyczynę małopłytkowości, oznaczano stężenie mocznika (36, 37). Badania przeprowadzone przez Gawaza i wsp. (38) u ludzi wykazały, że hipomagnezemia może być czynnikiem aktywującym płytki (38). Podobne wyniki uzyskała Olsen i wsp. (29) u CKCS z bardzo często zdarzającym się u nich wypadaniem zastawki dwudzielnej (29). Stężenie jonów magnezu w surowicy CKCS w badaniach własnych było istotnie niższe niż u psów w grupie kontrolnej.

Badania opublikowane przez Singha (2) oraz Weissa i wsp. (7) pozwoliły na stwierdzenie, że u CKCS choroba ma charakter wrodzony i dziedziczona jest autosomalnie recesywnie (2, 7). Płytki krwi takich psów są wielkości erytrocytów lub nawet większe. Przyczyną powstawania makropłytek jest mutacja nukleotydu 745 w genie dla białka β tubuliny (7, 39). Powoduje to w przebiegu trombopoezy odsznurowywanie od megakariocytów nieprawidłowo wielkich fragmentów cytoplazmy. Prewalencja tej mutacji w populacji CKCS w USA jest wysoka i wynosi około 90% (homo- i heterozygoty). Natomiast badania przeprowadzone u psów żyjących w Irlandii wykazały, że defektem tym obciążone jest 65% populacji (7, 29). Badania Gresele i Falcinelli u ludzi (40) wykazały, że występowaniu tego defektu genu β1 tubuliny (Q43P 1-tubulin variant) towarzyszy charakterystyczna sferocytarna budowa megakariocytów oraz słabsza aktywacja płytek pod wpływem trombiny i mniejsze uwalnianie ATP. Autorzy ci w badaniach myszy, z doświadczalnie uszkodzonym genem dla β1 tubuliny, zaobserwowali małopłytkowość o niewielkim nasileniu, sferyczny kształt płytek oraz słabszą aktywację pod wpływem trombiny.

## Wnioski

Wyniki badań własnych, obejmujące dane z wywiadu i badania klinicznego pacjenta oraz wyniki oznaczeń biochemicznych i hematologicznych, w tym pomiaru liczby płytek krwi w automacie hematologicznym i oceny mikroskopowej rozmazu, pozwoliły na potwierdzenie u badanych CKCS występowanie trombocytopenii zależnej od rasy. Makrotrombocytopenia, w zakresie  $5-191 \times 10^9/l$ , przy średniej objętości płytek krwi (MPV), wynoszącej 9,42 fl, występuje w Polsce u 89% cavalier king charles spanieli (42 z 47 przebadanych psów).

## Piśmiennictwo

1. Brown S.J., Simpson K.W., Baker S., Spagnoletti M.A., Elwood C.M.: Macrothrombocytosis in Cavalier King Charles spaniels. *Vet. Rec.* 1994, 135, 281-283.
2. Singh M.K., Lamb W.A.: Idiopathic thrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *Australian Vet. J.* 2005, 11, 700-703.

3. Micuń J., Sobczak-Filipiak M., Winnicka A., Mieczkowska J., Żmudzka M., Lechowski R.: Małopłytkowość jako cecha rasy psów ogar polski. *Nowe trendy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt domowych. Monografia.* 2006, 81-85.
4. Steiss J.E., Brewer W.G., Welles E., Wright J.C.: Hematologic and serum biochemical reference values in retired Greyhounds. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2000, 22, 243-248.
5. Sullivan P.S., Evans H.L., Mc Donald T.P.: Platelet concentration and hemoglobin function in Greyhounds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994, 205, 838-841.
6. Matuszkiewicz M., Winnicka A.: Trombocytopenia tła immunologicznego u psów. *Życie Wet.* 2006, 7, 450-454.
7. Weiss D.J., Wardrop K., J.: *Schalm's Veterinary Hematology.* Lippincott Williams and Wilkins 2010, 559-633.
8. Winnicka A.: *Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii.* Wydawnictwo SGGW, 2008.
9. Day M., Mackin A., Littlewood J.: *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.* British Small Animal Veterinary Association. 2000, 221-227.
10. Cowan S.M., Bartsch J.W., Gompf R.E., Hayes J.R., Moyers T.D., Snider C.C., Gerard D.A., Craft R.M., Muenchen R.A., Carroll R.: Giant platelet disorder in the Cavalier King Charles Spaniel. *Exp. Haematol.* 2004, 32, 344-350.
11. Drachman J.G.: Inherited thrombocytopenia: when a low platelet count does not mean ITP. *Blood.* 2004, 103, 390-398.
12. Fabris F., Cordiano I., Salvan F.: Chronic isolated macrothrombocytopenia with autosomal dominant transmission: a morphological and qualitative platelet disorder. *Eur. J. Haematol.* 1999, 58, 40-45.
13. Matuszkiewicz M., Winnicka A.: Diagnostyka i leczenie trombotopatii jako przyczyny krwawień u psów. *Magazyn Wet.* 2007, 9, 6-9.
14. Brooks M.: Dziedziczne zaburzenia krzepnięcia krwi u psów i kotów. *Weterynaria po Dyplomie* 2001, 1, 48-56.
15. Boudreaux M.K., Catalfamo J.L.: Molecular and genetic basis for thrombastenic thrombocytopenia in otterhounds. *Am. J. Vet. Res.* 2001, 61, 1797-1804.
16. Nelson R.W., Couto C.G.: *Small Animal Internal Medicine.* 3rd ed., Mosby. 2003, 1190-1192.
17. Stokol T., Erb H.N.: A comparison of platelet parameters in EDTA- and citrate anticoagulated blood in dogs. *Vet. Clin. Path.* 2007, 2, 148-154.
18. Savage R.A.: Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am. J. Clin. Pathol.* 1984, 81, 317-322.
19. Thompson C.B., Diaz D.D., Quinn P.G., Lapins M., Kurtz S.R., Valeri C.R.: The role of anticoagulation in the measurement of platelet volumes. *Am. J. Clin. Pathol.* 1983, 3, 327-332.
20. Kasprzycka E., Żak J., Radomski K., Wysocka J., Hryniewicz K.: Satelityzm płytkowy. *Wiad. Lek.* 2006, 7/8, 557-559.
21. Morselli M., Longo G., Bonacorsi G.: Anticoagulant pseudothrombocytopenia with platelet satellitism. *Haematology.* 1999, 84, 655-672.
22. Van der Meer W., Allebes W., Simon A., van Berkel Y., de Keijzer M.H.: Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA- and temperature independent antibodies of the IgM type. *Eur. J. Haematol.* 2002, 68, 35-539.
23. Bizzaro N.: EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia: A clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am. J. Hematol.* 1995, 103, 103-107.
24. Bomski H.: *Hematologia.* Państwowe Wydawnictwo Lekarskie PZWL. 1998, 25-309.
25. Wills T., Wardrop L. J.: Pseudothrombocytopenia secondary to effects of EDTA in dog. *J. Am. Animal Hosp. Ass.* 2008, 44, 95-97.
26. Grindem C.B., Breitschwerdt E.B., Corbett W.T., Page R.L., Jans H.E.: Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 1994, 8, 400-405.
27. Hendrix C.M., Sirois M.: *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians.* Mosby Elsevier 2007, 30-89.
28. Boudreaux M.K., Bebe S.: Comparison of platelet number, mean platelet volume and platelet mass in five mammalian species. *Comp. Haematol. Internat.* 1998, 8, 16-20.
29. Olsen L.H., Kristensen A.T., Haggström J., Jensen A.L., Klitgaard B., Hansson H., Pedersen H.D.: Increase platelet aggregation response in cavalier King Charles spaniels with mitral valve prolapse. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, 15, 209-216.
30. Racchi O., Rapezzi D.: Megathrombocytes and spurious thrombocytopenia. *Eur. J. Haematol.* 2001, 66, 140-141.
31. Pińkowski R.: *Płytki krwi, aktualne wskaźniki oraz wybrane zagadnienia związane ze stosowaniem analizatorów hematologicznych.* Abbot Laboratories Poland. 1997, 5-46.
32. Schrezenmeier H., Müller H., Gunsilus E., Heimpel H., Seireid E.: Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia

## Prace kliniczne i kazuistyczne

- and pseudoleucocytosis. *Thromb. Haemostas.* 1995, **73**, 506-513.
33. Szczepiński A.: Małopłytkowość rzekoma EDTA – zależna. *Act. Haematol. Polon.* 1996, **2**, 217-223.
34. O'Malley T., Ludlam C.A., Fox K.A., Elton R.A.: Measurement of platelet volume using a variety of different anticoagulant and antiplatelet mixtures. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 1996, **7**, 431-436.
35. Van Vliet H.H.D., Kappers– Klunne M.C., Abels J.: Pseudothrombocytopenia: A cold antibody against platelet glycoprotein IIb. *Br. J. Haematol.* 1986, **65**, 501-5011.
36. Casonato A., Bertomoro A., Pontara E., Dannhauser D., Lazzaro A.R., Girolami A.: EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIb-IIIa. *J. Clin. Pathol.* 1994, **47**, 625-630.
37. Trautsolt W., Grzeszczak W., Szydłowska I.: Ekspresja selektyny P (CD62P) na błonie komórkowej krwinek płytkowych oraz stężenia czynnika płytkowego 4 i  $\beta$ -tromboglobuliny w osoczu chorych na przewlekłą niewydolność nerek, z nefropatią cukrzycową i bez nefropatii cukrzycowej, podczas dializy. *Diabetol. Dośw. Klin.* 2001, **1**, 47-56.
38. Gawaz M., Ott I., Reininger A.J., Neumann F.J.: Effects of magnesium on platelet aggregation and adhesion. *Thromb. Haemost.* 1994, **72**, 912-918.
39. Davis B., Toivio-Kinnucan M., Schuller S., Boudreaux M.K.: Mutation in beta-tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles spaniels. *J. Vet. Intern. Med.* 2008, **22**, 540-545.
40. Gresele P., Falcinelli E.:  $\beta$ 1 tubulin i human platelets: not simply a structural cell frame. *Blood.* 2005, **7**, 2229-2230.
- Praca współfinansowana: ze środków Komitetu Badań Naukowych, nr projektu badawczego promotorskiego 1929/B/

P01/2008/35 oraz w ramach stypendium finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz Budżetu Państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego 2004–2006; projekt Mazowieckie Stypendium Doktoranckie 2008/2009; nr 747/1068/09.

---

Dr Magdalena Żmigrodzka, Zakład Patofizjologii, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa