

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Hematologie a hematologická onemocnění psa

Bakalářská práce

Autor práce: Martina Janochová

Obor studia: Zoorehabilitace a asistenční aktivity se zvířaty

Vedoucí práce: Ing. Tereza Žalmanová, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Hematologie a hematologické onemocnění psa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce, Ing. Tereze Žalmanové, Ph.D. za ochotu, pomoc a dobré rady.

Hematologie a hematologická onemocnění psa

Souhrn

Tato bakalářská práce má charakter literární rešerše. První polovina se zabývá obecnými charakteristikami krve a poskytuje informace o jejích vlastnostech a funkcích. Dále pojednává o důležitosti každé složky krve. Jako první se zabývá erytrocyty, bezjadernými červenými krvinkami nezbytnými pro přenos kyslíku v organismu. Popsána je také tvorba červených krvinek – erythropoéza. Další důležitou krevní složkou jsou leukocyty, bílé krvinky, dále dělené na granulocyty obsahující zrníčka v cytoplazmě – eozinofily, basofily a neutrofilie – a agranulocyty – T-lymfocyty, B-lymfocyty a NK buňky. Tyto buňky hrají důležitou roli v imunitním systému. Posledními popsány krevními elementy jsou trombocyty neboli krevní destičky, které jsou nezbytné ke srážení krve. Všechny krevní elementy se nachází v plazmě – tekuté složce krve s množstvím rozpuštěných organických a anorganických látek. V první části práce jsou také popsány všechny fáze krevního vyšetření, které je prováděno při analýze krve, popisuje komplikovanost krevních skupin vyskytujících se u psů a zabývá se imunitním systémem a všemi jeho složkami.

Druhá část práce je věnována rozboru několika vybraných hematologických onemocnění. První uvedené onemocnění je anémie neboli chudokrevnost, což je onemocnění vyvolané nedostatkem erytrocytů, hemoglobinu, nízkým hematokritem nebo kombinací těchto příčin. Tato práce se postupně soustředí na tři typy chudokrevnosti - anémii aplastickou, sideropenickou a hemolytickou. Další popsané onemocnění je leukémie, onemocnění zasahující bílé krvinky, které postihuje celý organismus. Postupně jsou představeny její dva typy – myeloidní a lymfatická, a to jak forma akutní, tak i chronická. Poslední dvě onemocnění se týkají nejčastějších poruch krevní srážlivosti – Von Willebrandovy choroby, způsobené poruchou Von Willebrandova faktoru, a hemofilí typu A i B, způsobené poruchou faktoru VIII a IX. Poslední část práce se zabývá hypersenzitivitou, která je úzce spjata s imunitním systémem. Popisuje průběh vzniku alergií a anafylaktický šok. U všech druhů onemocnění jsou uvedeny nejčastější možnosti léčby.

Klíčová slova: krev, krevní systém, pes, hematologická onemocnění

Hematology and hematological diseases of the dog

Summary

This bachelor thesis has a character of literature review. The first half deals with general blood characteristics and provides information about blood's qualities and function. It also highlights the importance of each component. First it discusses erythrocytes, non-nuclear red blood cells, necessary for oxygen transportation. Also, the creation of red blood cells – erythropoiesis – is mentioned. Another important blood component are leucocytes, white blood cells, further divided into granulocytes, which contain granules in cytoplasm and can be further divided into eosinophils, basophils and neutrophils, and agranulocytes, like T-lymphocytes, B-lymphocytes and NK cells. These cells play an important part in immune system. The last of blood's elements are thrombocytes, or platelets, which are essential for hemocoagulation. All of blood's elements are located in plasma – a fluid part of blood containing a high level of dissolved organic and inorganic substances. The first part of the thesis also describes all phases of blood examination, which is carried out during blood analyses, depicts the complexity of blood groups which can be found in dogs and deals with the immune system and all its components.

The second part of this thesis is dedicated to several hematological diseases. The first disease introduced is anemia and is induced by lack of erythrocytes, low level of hematocrit, hemoglobin or combination of these causes. This thesis is gradually focusing on three types – aplastic anemia, sideropenic anemia and hemolytic anemia. Another disease described is leukemia, which targets white blood cells and affects the whole organism. Two types are mentioned – myeloid and lymphocytic leukemia, both in their acute and chronic form. The last two diseases involve the most common causes of incorrect platelet function – Von Willebrand's disease, caused by disorder of Von Willebrand factor, and hemophilia type A and B, caused by disorder of VIII and IX factor. The last section of the thesis is focused on hypersensitivity, which is closely connected with immune system. It describes the development of allergies and allergic reactions. The description of all types of diseases is completed with the most common treatments.

Keywords: blood, blood system, dog, hematological diseases

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
1 Krev	3
1.1 Vlastnosti a funkce krve	3
1.1.1 Vlastnosti krve	3
1.1.2 Funkce krve.....	3
1.2 Složení krve	3
1.2.1 Erytrocyty	4
1.2.2 Leukocyty	5
1.2.3 Trombocyty.....	9
1.2.4 Plazma.....	10
1.3 Vyšetření krve	10
1.3.1 Vyšetření periferní krve	10
1.4 Krevní skupiny	11
1.5 Imunitní systém	13
1.5.1 Vlastnosti	13
1.5.2 Složky imunity	13
1.5.3 Imunitní odpověď	14
2 Hematologická onemocnění	16
2.1 Anémie	16
2.1.1 Aplastická anémie	17
2.1.2 Sideropenická anémie	18
2.1.3 Hemolytická anémie	19
2.1.4 Přírodní léčba anémie	20
2.2 Leukémie	21
2.2.1 Akutní myeloidní leukémie	22
2.2.2 Chronická myeloidní leukémie	22
2.2.3 Akutní lymfatická leukémie.....	23
2.2.4 Chronická lymfatická leukémie	23
2.2.5 Přírodní léčba leukémie	24
2.2.6 Chemoterapie	24
2.3 Poruchy krevní srážlivosti	24
2.3.1 Von Willebrandova choroba	25
2.3.2 Hemofilie	26
2.4 Hypersenzitivita	27
2.4.1 Hlavní efekторы	27
2.4.2 Průběh	28
2.4.3 Anafylaktický šok	29

2.4.4	Léčba alergií	30
3	Závěr.....	31
4	Seznam literatury	32

1 Úvod

Krev je důležitou tělní tekutinou a její správná funkce a složení jsou nezbytné pro život a zdraví. Má funkci transportní, zajišťuje přenos kyslíku, oxidu uhličitého a dalších látek, udržuje stálé prostředí a zprostředkovává imunitu, na čemž se mimo jiné podílí bílé krvinky – leukocyty.

Krev je jedním z biologických materiálů, které jsou odebírány při návštěvě veterinárního lékaře, a podle jejích parametrů a změn je možno včas diagnostikovat potenciálně smrtelnou chorobu. Vyšetření krve má klíčový význam pro odhalení nemocí a poruch, které ovlivňují jednu z jejích složek. Hematologická onemocnění jsou mnohokrát sekundárním projevem závažného onemocnění, jakým je například chronické selhání ledvin, které je často doprovázeno anémií.

Tato práce obsahuje shrnutí poznatků o složení krve, krevních parametrech a morfologii krevních elementů specifických pro psa. Dále jsou rozebírána vybraná hematologická onemocnění, mezi nimi anémie a leukémie, jejich průběh a možnosti léčby. Dále jsou shrnuty poznatky o krevních destičkách, jejich uplatnění při srážení krve a poruchám, ke kterým může docházet. V souvislosti s bílými krvinkami je také zahrnut imunitní systém a hypersenzitivní reakce.

Tato práce je určena především pro chovatele, pro zvýšení jejich informovanosti o problematice hematologických onemocnění, jejich projevech a možnostech jejich léčby.

2 Cíl práce

Cílem práce je nastudovat a shrnout dosavadní poznatky o hematologii, základních hematologických parametrech a krevních funkcích a popsat vybraná krevní onemocnění vyskytující se u psa.

1 Krev

Krev je životně důležitá tekutina, jedna z hlavních součástí vnitřního prostředí organismu (Trojan a Langmeier, 2003). Oběh krve je nezbytný pro správné plnění jejích funkcí (Doubek et al., 2003). Doubek et al. (2003) uvádí, že pes má 75 - 90 ml krve na kilogram živé hmotnosti.

1.1 Vlastnosti a funkce krve

1.1.1 Vlastnosti krve

Mezi nejdůležitější vlastnosti krve patří viskozita, osmolalita, osmotický tlak, tonicita, onkotický tlak a poměrná hustota. Viskozita je v porovnání s vodou ovlivněná množstvím buněčných elementů, koncentrací plazmatických proteinů a teplotou. Osmolalita je určena množstvím rozpuštěných částic v plazmě, ovlivňuje ji koncentrace solí, glukózy, dusíkatých metabolitů, avšak proteiny příliš ne. Osmotický tlak představuje rozdíl mezi plazmou a vodou při ideálně polopropustné membráně, závisí na osmolalitě (dosahuje hodnoty asi 750 kPa). Tonicita odpovídá osmotickému tlaku proti plazmě (1 = izotonicita, hypertonicita > 1, hypotonicita < 1). Onkotický (koloidně osmotický) tlak představuje tlak plazmatických proteinů proti vmezeřené tkáni, přičemž stěny vlásečnic jsou pro proteiny nepropustné (dosahuje hodnot kolem 3,5 kPa). Poměrná hustota znamená poměr určité hmotnosti proti vodě, je závislá především na hodnotě hematokritu a koncentraci plazmatických proteinů (Krev 1050 – 1060, plazma 1020 – 1030) (Doubek et al., 2003).

1.1.2 Funkce krve

Funkcí krve je přenos kyslíku, oxidu uhličitého, řady metabolitů, vody a tepla. Další úlohou krve je udržování homeostázy, za pomoci různých informačních molekul, nárazníkových systémů apod. Třetí funkcí krve je zajišťovat obranyschopnost, na čemž se podílí leukocyty, imunoglobuliny, cytokiny, proteiny akutní fáze aj (Svoboda et al., 2001).

1.2 Složení krve

Krev je tvořena buněčnými elementy – erytrocyty, leukocyty a trombocyty – a krevní plazmou (Trojan a Langmeier, 2003).

1.2.1 Erytrocyty

Erytrocyt neboli červená krvinka, je nejpočetnější buňkou v krvi (Eurell, 2004). Je dokonale přizpůsobená své funkci, což je transport dýchacích plynů mezi plicními sklípky a tkáněmi (Trojan a Langmeier, 2003). Erytrocyty všech savců jsou bezjaderné a většina má tvar bikonkávních disků, nazývaných diskocyty (Harvey, 2001). Bikonkávní tvar má význam pro zvětšení difuzní plochy pro krevní plyny, zvětšuje povrch erytrocytu přibližně o 1/3. Celkově povrch jednoho erytrocytu činí asi $130 - 160 \mu\text{m}^2$ (Doubek et al., 2003). Výsledkem bikonkávního tvaru je také centrální bledost erytrocytů pozorovatelná v krevních nátěrech. Bikonkávnost je nejvýraznější právě u psů, kteří mají také největší erytrocyty (Harvey, 2001) o průměru $7 \mu\text{m}$ a tloušťce asi $2 \mu\text{m}$ (Svoboda et al., 2001).

Nejdůležitější složkou erytrocytů je hemoglobin (Trojan a Langmeier, 2003). Jedná se o protein (Eurell, 2004) sestávající se ze čtyř polypeptidových řetězců, který představuje bílkovinu globin. Ta tvoří asi 96 % molekuly hemoglobinu. Na globin se váže nebílkovinná skupina hem (Trojan a Langmeier, 2003), která obsahuje železo (Eurell, 2004).

Navázáním kyslíku na hemoglobin vzniká oxyhemoglobin, přičemž jedna molekula hemoglobinu může navázat čtyři molekuly kyslíku. Nejobtížnější je navázání první molekuly kyslíku, ale její připojení ovlivní prostorové uspořádání molekul v hemoglobinu a usnadní se vazba s O_2 pro ostatní hemy. Tato interakce je označována jako interakce hem-hem. Hemoglobin váže také oxid uhličitý a vzniká tak karbaminohemoglobin. V případě navázání oxidu uhelnatého vzniká karboxyhemoglobin. Ten postrádá schopnost vázat kyslík a nemůže tedy plnit svoji dýchací funkci. Vazba hemoglobinu s oxidem uhelnatým se rozpadá 200 krát pomaleji než vazba s O_2 , takže ke smrtelné otravě stačí velmi malé množství oxidu uhelnatého ve vdechovaném vzduchu (Trojan a Langmeier, 2003). Další patologickou formou hemoglobinu je sulfhemoglobin, který vzniká vnesením síry do molekuly hemoglobinu, což je spojeno s denaturací hemoglobinu a vzniká po působení sulfanu, sulfanoamidů aj. Při poklesu pH a vzestupu teploty dochází ke snazšímu uvolňování kyslíku z hemoglobinu (Doubek et al., 2010).

Protože červené krvinky neobsahují ribozomy, nemohou syntetizovat protein k nahrazení molekul (například enzymy, stavební proteiny), které byly denaturovány. Červené krvinky mají tedy limitovanou životnost 110 – 120 dní, pak jsou vstřebány a rozloženy makrofágy ze dřene, sleziny, jater a dalších orgánů (Porwit et al., 2011).

1.2.1.1 Erytropoéza

Erytropoéza je vývin červené krvinky od pluripotentní kmenové buňky přes normoblasty a retikulocyty až po erytrocyty. Během tohoto vývoje se jádro kondenzuje a zmenšuje, až je nakonec ve stádiu ortochromního normoblastu vypuzeno. Nově bezjaderná buňka – dřevný retikulocyt – si ještě zachovává některé cytoplazmatické organely (ribozomy a mitochondrie) a dokáže ještě vytvářet hemoglobin (Trojan a Langmeier, 2003). V malém množství se mohou vyskytovat i u dospělých psů, pokud jejich množství nepřesahuje 1 % z celkového počtu erytrocytů. Podíl retikulocytů u štěňat v prvních dvou měsících života může být až 10 % z celkového množství červených krvinek. Retikulocyty se uvolňují z kostní dřevě psa přibližně každých 14 dní (Doubek et al., 2003). Po vstupu do oběhového systému postupně ztrácí organely, odbourávají se ribonukleové kyseliny, postupně ztrácí schopnost tvorby hemu i globinu a mění se v erytrocyty (Trojan a Langmeier, 2003). U novorozených štěňat se také mohou občas nacházet erytrocyty s jádrem (Doubek et al., 2003).

Vývoj červených krvinek v krevní dřevě řídí erythropoetin, hormon produkovaný ledvinami. Produkce erytrocytů se zvyšuje, když je v těle nedostatek kyslíku. Při selhání ledvin dochází k poruchám produkce erythropoetinu, a proto bývá onemocnění ledvin často doprovázeno anémií. Faktory, které ovlivňují produkci červených krvinek, zahrnují selhání nebo nádor kostní dřevě, selhání ledvin, určité léky nebo toxiny, dlouhodobé oslabující nemoci nebo antigeny cílené na vývoj erytrocytů (Holmes et al., 2011).

1.2.2 Leukocyty

Leukocyty, nebo také bílé krvinky, jsou mobilní jednotky obranného systému organismu, které jsou transportovány krví do oblastí, kde je jich třeba. Leukocyty mají několik společných vlastností, mezi ně patří hlavně pohyblivost, kterou vynikají především neutrofilní granulocyty a monocyty, schopnost fagocytózy a schopnost přilnout k různým povrchům – adhezivita, kterou zajišťují adhezní molekuly, především glykoproteiny selektiny, integriny a imunoglobuliny (Trojan a Langmeier, 2003). Leukocyty se dělí na polymorfonukleární a mononukleární. Polymorfonukleární leukocyty mají kondenzované, dělené jádro. Běžně se nazývají granulocyty, protože obsahují velké množství cytoplazmatických granul (Harvey, 2001), které představují enzymovou výzbroj buňky (Svoboda et al., 2001). Tato třída leukocytů zahrnuje neutrofilny, eozinofily a basofily.

Neutrofilny se vyznačují bledými, obtížně rozpoznatelnými, granulemi (Eurell, 2004) a jsou velké 8 – 15 μm (Doubek et al., 2003). Uplatňují se především v nespecifické imunitě

(Svoboda et al., 2001), například při zánětech, kdy prostřednictvím chemoatrakce putují do místa zánětu. Následně fagocytózou (Allison et al., 2012), což je buněčný transport pevných částic pomocí transportních váčků (Trojan a Langmeier, 2003), pohltí organismy a ostatní cizí látky. Ty se pak rozloží enzymatickým trávením (Allison et al., 2012). Neutrofilů, především u psa, silně reagují na stresové faktory. Neutrofilní granulocyty v krvi přežívají jen několik hodin. Z krve mohou na základě různých signálů přecházet do cílových tkání, kde plní své funkce. Ve tkáních také zanikají (Doubek et al., 2003).

Eosinofily obsahují charakteristicky velká eosinofilní granula v cytoplazmě (Eurell, 2004) a u zdravých psů se nachází v periferní krvi pouze v malém množství (Doubek et al., 2003). Velikost, tvar a počet eosinofilů se výrazně liší (Harvey, 2001). Doubek et al. (2003) uvádí velikost v rozmezí 10 – 16 μm . Eosinofily se u psů často vyznačují větším počtem cytoplazmatických vakuol a granula mohou být obzvláště velká. Anglický chrt, a občas i příslušníci jiných plemen, mají eosinofily obsahující velký počet vakuol (Harvey, 2001). Jsou málo zřetelné (Doubek et al., 2003) a nezkušenými pozorovateli mohou být zaměněny za neutrofilů s velkým počtem vakuol (Harvey, 2001).

Eosinofily se uplatňují hlavně při alergických a parazitárních onemocněních, kdy se jejich počet zvyšuje a hromadí se v místech, kde alergeny pronikají do těla (např. trávicí ústrojí nebo plíce). Přichytí se na parazity a následně uvolňují látky, které je poškozují (např. hydrolytické enzymy, cytotoxické proteiny aj.) (Trojan a Langmeier, 2003). V krvi žijí maximálně týden (Svoboda et al., 2001).

Basofilní granulocyty představují nejméně častý typ leukocytů v krvi (Porwit et al., 2011). Velikost kolísá v relativně velkém rozmezí, a sice od 8 do 18 μm (Doubek et al., 2003). Morfologie granul se u zvířat liší. Basofily psa mají menší počet tmavě fialových granul (Allison et al., 2012). Jejich buňky obsahují heparin a histamin, podobně jako žírné buňky (Trojan a Langmeier, 2003). Allison et al. (2012) uvádí, že funkce basofilů je neznámá. Jejich cytoplazmatická membrána váže imunoglobulin E, jako žírné buňky, ale nebyl podán žádný důkaz, že by basofily migrovaly do tkání a stávaly se žírnými buňkami (Allison et al., 2012). Na druhou stranu Porwit et al. (2011) se domnívá, že basofily mají důležitou roli při hypersenzitivních a imunitních reakcích na helmintické infekce. Trojan a Langmeier (2003) uvádí, že látky z jejich granul působí lokální cévní a tkáňové reakce (zvýšení permeability cév, vazodilataci aj.), které jsou součástí alergických projevů. Siracusa et al. (2014) píše, že nárůst počtu basofilů je spojený s mnoha nemocemi jako třeba atopická dermatitida, hypersenzitivní reakce, astma nebo akutní a chronická myeloidní leukemie. Podle Schwartze et al. (2015) jsou basofily schopné řídit zánět vyvolávající reakce tím, že přivádí efektorové buňky jako například

eozinofily a zánětlivé makrofágy k místu zánětu. Současně jsou také schopny omezit zánět uvolňováním amfiredulinu, vyvolat alternativní aktivaci makrofágů a připravit protizánětlivé prostředí.

Agranulocyty, nebo také, jak je Harvey (2001) nazývá, mononukleární leukocyty, neobsahují v cytoplazmě sekundární, tj. specifická granula. V cytoplazmě zralých buněk se ale mohou vyskytovat primární (azurofilní) granula a vakuoly (Doubek et al., 2003). Tato skupina buněk se dělí na lymfocyty a monocyty (Eurell, 2004). Lymfocyty jsou malé, kulaté buňky, které mají průměr 7 – 15 μm (Tizard, 2004). Jako jediné buňky jsou schopné specificky identifikovat antigen (Trojan a Lengmeier, 2003) a jsou důležité zejména kvůli roli, kterou hrají ve specifické i nespecifické imunitě a protinádorové imunitě. Dělí se na T-lymfocyty, B-lymfocyty a NK (natural killer) buňky (Svoboda et al., 2001).

Pro lymfocyty je typická jejich recirkulace mezi krví a lymfou. Hromadně opouštějí krevní řečiště, vstupují do periferních lymfatických tkání, hromadí se v malých lymfatických cévách, následně se přesunují do větších a přes hrudní mízovod se dostávají zpět do krve, aby celý proces opakovaly znovu. Tato recirkulace zajišťuje setkávání lymfocytů s antigeny, které se většinou nachází v lymfatické tkáni, umožňuje rozptýlení T a B-lymfocytů po celém těle a dovoluje jim tak výkon trvalého imunitního dozoru (Trojan a Langmeier, 2003).

T-lymfocyty jsou buňky zajišťující buněčnou imunitu (Trojan a Langmeier, 2003). Tizard (2004) uvádí, že T-lymfocyty tvoří 40 – 80 % lymfocytů v krvi. Jejich činnost je významná v případě infekce a také v boji organismu proti virům, plísním a nádorovým buňkám. K jejich hlavním funkcím patří aktivace makrofágů, aktivace B-lymfocytů k tvorbě protilátek, potlačování odpovědi specifických T a B-lymfocytů a buněčně zprostředkovaná cytotoxicita. Vzhledem k těmto funkcím se T-lymfocyty dělí na cytotoxické T-lymfocyty (T_C), pomocné (T_H) (helper = pomocník) a supresorové (T_S) (Trojan a Langmeier, 2003). T_C lymfocyty jsou efektorové buňky schopné rozpoznat cizí antigen na povrchu kterékoliv buňky těla. Jejich hlavním úkolem je boj proti virům, zabíjení bakterií a některých parazitů, kontrola fyziologického stavu buněk, detekce nádorového zvratu buněk, virové infekce a abnormalit. Také ničí buňky cizích tkání a jsou zodpovědné za odmítnutí transplantátu. T_H lymfocyty jsou nejpočetnější z T-lymfocytů (jejich podíl je přes 75%). Podílí se na regulaci všech imunitních funkcí, které jsou nutné pro tvorbu protilátek v B-lymfocytech a pro odpověď na většinu antigenů. Po své aktivaci produkují cytokiny, signální proteiny nezbytné pro další průběh imunitní reakce. T_S lymfocyty se podobně jako T_H lymfocyty podílejí na regulačních funkcích. Jejich hlavním úkolem je potlačovat funkce T_C a T_H lymfocytů a odpovědi B-lymfocytů na antigeny. Jejich funkce je podněcována T_H lymfocyty, které pak zpětně tlumí. Tento

zpětnovazebný systém brání přehnaným imunitním reakcím a brání imunitnímu systému napadat tkáň vlastního těla.

B-lymfocyty jsou buňky zajišťující humorální imunitu (Trojan a Langmeier, 2003) a tvoří 10 – 50 % podíl lymfocytů v krvi (Tizard, 2004). B-lymfocyty se po opuštění kostní dřene označují jako „naivní“ a nacházejí se převážně v lymfatických tkáních. K jejich aktivaci dochází po prezentaci antigenu B-buňce makrofágem. To znamená, že makrofág cizí látku fagocytuje, částečně stráví a antigenní složky umístí na svém povrchu a „nabídne“ je lymfocytům (Trojan a Langmeier, 2003). B-lymfocyty se po setkání s antigenem postupně mění na plazmatické buňky (plazmocyty). Ty mají větší objem buňky a jádra, někdy mají i více jader a cytoplazma může být vakualizovaná (Svoboda et al., 2001). Úkolem těchto buněk je rychlá produkce protilátek (Trojan a Langmeier, 2003). Jejich životnost je 10 – 20 dní (Doubek et al., 2003). B-lymfocyty, které se nemění v plazmatické buňky, se množí a diferencují a stávají se paměťovými buňkami. Tyto buňky se vyznačují dlouhou životností a neaktivní cirkulují v těle. Dojde-li k setkání s tímtož antigenem, rychle zasahují a produkují velké množství protilátek (Trojan a Langmeier, 2003).

NK (natural killers) buňky, označované též jako nulové buňky, postrádají povrchové znaky charakteristické pro B a T-lymfocyty a specifické receptory pro antigeny (Trojan a Langmeier, 2003). Tyto buňky jsou málo početné (Tizard, 2004). Doubek et al. (2003) uvádí, že jejich množství u savců nepřesahuje 5 % z celkového počtu lymfocytů. Jsou schopny spontánně zabít cílové buňky, hlavně nádorové a napadené virem, bakterie, parazity a jiné elementy. Jsou vysoce toxicidní, uvolňují perforiny, což jsou cytolyticky působící látky. NK buňky jsou biologicky důležité agresivní buňky, které zasahují rychleji než protilátky produkované B-lymfocyty a cytotoxické T-lymfocyty (Trojan a Langmeier, 2003).

Monocyty jsou obvykle větší než lymfocyty. U psů mají často podkovovité jádro, takže mohou být zaměněny s podkovovitými neutrofily (Harvey, 2001), a obsahují různé množství cytoplazmatických vakuol (Doubek et al., 2003). Normálně se monocyty vyvíjejí v makrofágy až po tom, co opustí krev a vstoupí do tkání (Harvey, 2001), kde pomáhají při chronických zánětech (Eurell, 2004). Pohlcují nejen bakterie a různé větší částice, ale i buňky. K fagocytóze jsou vybaveny četnými receptory, díky kterým rozeznávají částice určené k pohlcení a likvidaci. Pohlcené částice usmrcují a ničí enzymy, které uvolňují z lyzozomů nebo cytoplazmy buněčné membrány (Trojan a Langmeier, 2003). V případě některých onemocnění se mononukleární fagocyty v krvi aktivují, zvětší se a připomínají makrofágy. Fagocytóza erytrocytů se může vyskytovat u primární nebo sekundární anémie způsobené poruchou imunitního systému (Harvey, 2001).

1.2.3 Trombocyty

Krevní destičky (trombocyty) jsou u savců malé, kulaté až oválné bezjaderné úlomky buněk (Harvey, 2001), obsahující granule, které mohou, ale nemusí, být ve shlucích. V krvi žijí přibližně 10 dní. Z hlediska funkce se trombocyty dělí na čtyři zóny.

1) Periferní zóna, která zahrnuje třívrstvou membránu (Doubek et al., 2003), kde se nachází receptory, které umožňují ulpívání a interakci s cizím i vlastním povrchem a navázání různých látek (Svoboda et al., 2001)

2) Zóna rozpustného gelu, kde se nachází systém vláken (mikrofilament) a mikrotubulů a která umožňuje změny tvaru destičky a sekreci granulí

3) Zóna organel, kde jsou umístěny mitochondrie, azurofilní alfa granule, delta granule (hutná tělíška), lambda granule (lysozomální), peroxizomy, glykogen aj. – této části probíhají metabolické děje

4) Zóna membránových systémů, kde se nachází propojené systémy – otevřený kanalikulární a hutný tubulární. Otevřený kanalikulární systém výrazně zvětšuje povrch buňky a je důležitý pro transport obsahu granulí na povrch destičky. V hutném tubulárním systému se nachází ionty vápníku a svými enzymy se účastní tvorby derivátů kyseliny arachidonové, které ovlivňují některé procesy hemostázy (Doubek et al., 2003).

Trombocyty jsou důležité při srážení krve (Eurell, 2004) a obsahují některé koagulační faktory (fibrinogen, FV, FVIII, vWF, FX) (Alušík a Lejsková, 2006). Činnost trombocytů aktivuje ADP, adrenalin, faktor aktivující krevní destičky (PAF - platelet activating factor), kyselina archidonová, vazopresin, tromboxan A₂ a hlavně kolagen, trombin a Ca-ionofory. Naopak jejich činnost brzdí nitroxidový radikál a prostaglandiny (PGI, PGD₂). V cytoplazmě je velké množství granulí – α , β , γ . Tyto granule obsahují destičkové faktory, vápník, serotonin, enzymy, fibroblastový růstový faktor aj. V ochranném plášti okolo trombocytu se nachází hemokoagulační faktory a jiné látky (Svoboda et al., 2001). Doubek et al. (2003) uvádí, že proces zastavení krve (hemostázy) se skládá ze dvou fází 1) tvorby primární zátky a 2) usnadnění koagulace.

1) V první fázi se trombocyty lepí na poškozený endotel, tvoří výběžky (pseudopodia), granule se přesouvají a do středu buňky uvolňují látky, které obsahují. Dále se trombocyty začínají shlukovat a tvoří destičkovou zátku (trombus). Nejdůležitějším agonistou shlukování je ADP, dalšími jsou například kolagen (jen za přítomnosti ADP), PAF, TXA₂, trombin, plazmin a adrenalin v nefyziologické dávce. Výsledná primární zátka se smrští.

2) Usnadnění koagulace spočívá v uplatnění prokoagulačního povrchu trombocytu a ve vlastním působení trombocytu, který ale musí být nejdříve aktivován. Aktivaci představuje transmembránový přesun negativně nabitých fosfolipidů na povrch (flip-flop-reakce). Fosfolipidový povrch je nutný pro aktivaci faktoru X (FX) aktivovaným faktorem IX (FIXa) a faktoru II (FII) aktivovaným faktorem X (FXa).

Trombocyty se dále účastní hojení ran, ovlivňují propustnost vlásečnic, mají schopnost chemotaxe, pomáhají odstraňovat mikroorganismy a další cizorodé částice atd. (Doubek et al., 2003).

1.2.4 Plazma

Plazma je tekutá složka krve (Eurell, 2004) žlutavé barvy (Svoboda et al., 2001). Skládá se z vody s malým množstvím proteinů, anorganických solí a dalších organických složek jako například aminokyseliny, hormony a lipoproteiny (Eurell, 2004). V plazmě se také vyskytují i plyny jako například O₂, CO₂, N₂, vitamíny a enzymy (Doubek et al., 2003). Anorganické látky (Na, K, Ca, Mg, chloridy, fosfáty, hydrogenkarbonát aj.) mají velký význam v udržování objemu a pH plazmy, osmotického tlaku, srážení krve atd. (Svoboda et al., 2001). Nejvýznamnější organické látky jsou proteiny (nejčastěji albumin, globuliny a fibrinogen), dále sacharidy (monosacharidy – glukóza, složené cukry – glykoproteiny), lipidy (triacylglyceroly, fosfolipidy a cholesterol), lipoproteiny aj. Lipidy se podílejí na energetickém metabolismu a také mají funkci stavební. Lipoproteiny tvoří membrány a mají transportní funkci. Ostatní organické látky vyskytující se v plazmě jsou například kreatin, močovina, aminokyseliny, kreatinin, kyselina mléčná, mastné kyseliny, ketolátky aj. (Doubek et al., 2003). Organické látky (zejména proteiny) se podílí na udržování objemu a pH plazmy, srážení krve, transportu látek a plní také funkci výživnou a obrannou (Svoboda et al., 2001).

1.3 Vyšetření krve

1.3.1 Vyšetření periferní krve

Hematologické a hemostazeologické vyšetření krve se skládá ze tří fází – preanalitické, analytické a postanalytické.

Během preanalitické fáze se připravuje pacient a odběrový materiál, následně se odebere vzorek a vyplní se žádanka s údaji o pacientu, vzorku a požadovaných testech. Vzorek se zpracuje a uchová se ve zkumavce za odpovídajících podmínek, které se liší podle typu vyšetřovaného vzorku. Během této fáze mohou působit vlivy, které mají negativní dopad na výsledek. Mezi tyto vlivy patří pomalé vytékání krve z místa vpichu, kdy dochází ke snížení

počtu trombocytů z důvodu jejich přichycení k okraji vpichu, nedodržení teplotních podmínek pro uchování krve, což způsobuje rozpad erytrocytů, a opožděná analýza (nad 4 – 6 – 8 h po odběru), která může vést k chybné diagnostice vlivem změn, které v krvi probíhají.

Při analytické fázi dochází ke kvalitativním hematologickým vyšetřením, mezi které patří zjišťování množství erytrocytů, retikulocytů, trombocytů, leukocytů, hematokritu a koncentrace hemoglobinu. V této fázi může při použití automatických analyzátorů dojít k interferenci erytroblasty vs. lymfocyty, makrotrombocyty vs. lymfocyty nebo reaktivní lymfocyty vs. monocyty (Doubek et al., 2010).

Postanalytická fáze zahrnuje získání výsledků, jejich archivaci, interpretaci a vydání výsledků (Svoboda et al., 2008).

1.4 Krevní skupiny

Na povrchu buněčné membrány erytrocytu se nachází konkrétní antigeny (glykoproteiny nebo glykolipidy), na základě kterých může být krev rozdělena do krevních skupin (Lanevski and Wardrop, 2001). Znalost těchto antigenů je důležitá především při transplantacích, kdy dochází ke kontaktu buněk dárce s organismem příjemce nebo při transfúzi, kdy dochází k mísení krve. V případě, že antigeny v krvinkách dárce neodpovídají antigenům v buňkách příjemce, dochází k imunitní nebo antigenní reakci, kdy se v těle příjemce začnou tvořit protilátky proti antigenům dárce (Trojan a Langmeier, 2003). Pokud není známa krevní skupina, je nutné provést alespoň křížový test plazmy příjemce proti krvinkám dárce a naopak. Ani v jednom směru nesmí být přítomný náznak aglutinace (Bárta et al., 2008).

Studie za posledních padesát let naznačují, že u psů existuje minimálně dvanáct systémů krevních skupin. Sedm z nich je mezinárodně uznávaných a jsou řazeny do systému DEA (dog erythrocyte antigen). Jedná se o skupiny DEA 1.1, 1.2, 1.3, 3, 4, 5 a 7 (Acierno et al., 2014). Fragió et al. (2009) a Tizard (2004) zmiňují i krevní skupiny DEA 6 a DEA 8, ale v současné době jsou dostupné jen antiséra pro určení již zmíněných mezinárodně uznávaných krevních skupin (Blaise et al., 2007). Blaise et al. (2007) ve svém výzkumu také uvádí objevení další krevní skupiny s názvem Dal. Jedná se o antigen, který je u psů běžný, ale chybí u některých jedinců rasy dalmatin. U těchto jedinců se po první transfúzi v krvi vyvinou anti-Dal aloantigeny, kvůli kterým může být další transfúze neúčinná nebo způsobit hemolytické reakce při použití krevní skupiny Dal pozitivní (Blais et al., 2007).

Při nerespektování krevní skupiny při transfúzi dochází k rozpadu červených krvinek (Acierno et al., 2014) neboli posttransfuzní hemolytické anémii. Ta se většinou projeví do

několika hodin po transfuzi a je charakteristická zvýšenou teplotou, neklidem zvířete, dávením a otokem. Méně častěji se vyskytuje opožděná hemolytická reakce, která může mít za následek celkový kolaps zvířete (Bárta et al., 2008).

Zatímco většina psů má pouze dvě alely, systém DEA 1 zahrnuje více typů – 1.1, 1.2 a někdy bývá i uváděn 1.3 (Acierno et al., 2014). Alela DEA 1.1 je autozomálně dominantní nad DEA 1.2. Pes může být DEA 1.1 a 1.2 negativní, mít jen jednu nebo obě z alel. Například němečtí ovčáci jsou většinou DEA 1.1 a 1.2 negativní, zatímco retrívři bývají DEA 1.1 a 1.2 pozitivní (Svoboda et al., 2001). Výskyt psů DEA 1.1 pozitivních se liší s ohledem na plemeno od 100 % až po méně než 10 %, ale průměrně je odhadováno přibližně 50 %. Množství psů DEA 1.2 pozitivních bylo v USA odhadováno nejdříve na 20 %, pak 7 % a v současné době jsou jedinci s touto krevní skupinou vzácní (Acierno et al., 2014). Psi, kteří jsou DEA 1.1 a DEA 1.2 negativní, mají krevní skupinu 1.3 pozitivní. Problém této skupiny spočívá v tom, že když se k transfúzi psovi krevní skupiny DEA 1.1 a 1.2 použije krev DEA 1.3 pozitivní, pes si může vytvořit protilátky proti všem třem krevním skupinám – DEA 1.1, 1.2 a 1.3. Skupiny DEA 3 a DEA 5 fungují na podobném principu jako lidský AB0 systém. 15 – 50 % psů má přirozeně se vyskytující protilátky proti krevní skupině DEA 7, protilátky anti-DEA 3, anti-DEA 5 a anti DEA 7 jsou ve většině případů velmi slabé. Protilátky proti antigenu DEA 4 nejsou schopny způsobit hemolýzu (Svoboda et al., 2001).

Inkompatibilita antigenů DEA 1.1 a 1.2 při první transfuzi nezpůsobuje žádnou reakci (Svoboda et al., 2001), protože na rozdíl od mnoha dalších druhů, psi nemají klinicky důležité přírodní aloantigeny schopné způsobit akutní hemolýzu, ačkoliv slabé antigeny anti-DEA 7 mohou zkracovat životnost erytrocytů (Kessler et al., 2010). Doba, za kterou se vytvoří protilátky je 4 – 5 dní. Před první transfúzí tedy není nutné dělat zkoušky krevní skupiny a ani před dalšími, pokud následují během prvních pěti dní (Fragío et al., 2009).

Při pozdějších transfúzích je ale potřeba se zkouškami krve počítat, obzvláště když je dárcem DEA 1.1 nebo 1.2 pozitivní a příjemce DEA 1.1 nebo 1.2 negativní (Svoboda et al., 2001).

Lanevski and Wardrop (2001) uvádí, že ideální psi dárce by měli být alespoň DEA 1.1 a DEA 1.2 negativní. Podle Svobody (2001) je univerzální dárcem každý skupiny 1.1, 1.2, 3, 5 a 7 negativní, ale DEA 1.1 a 1.2 negativní se mohou použít bez dalších testů, protože protilátky proti ostatním antigenům jsou obvykle velmi slabé. Univerzální příjemce krevní transfúze u psů neexistuje (Svoboda et al., 2001).

1.5 Imunitní systém

1.5.1 Vlastnosti

Nezákladnějšími vlastnostmi imunitního systému jsou schopnost rozpoznat vlastní a cizí molekuly, paměť a specifčnost a rozmanitost reakcí. Schopnost rozlišit vlastní a cizí molekuly se uplatňuje zvláště při obraně proti parazitům a patogenním mikroorganismům, imunologickém dohledu, který brání spontánnímu vzniku nádorů a šíření poškozených buněk a molekul, a udržování jedinečnosti a chemické individuality každého jedince. Tato vlastnost může působit problémy například při transplantacích, protože DNA každého jedince je individuální a může se stát, že se buňky brání splynutí s cizími buňkami a tělo transplantát odmítne.

Při kontaktu s již známým antigenem se uplatňuje paměť imunitního systému. V takovém případě systém reaguje na daný antigen rychlejší, pohotovější a intenzivnější imunitní reakcí (Ferenčík et al., 2005). Paměť imunitního systému je dlouho trvající, většinou vydrží déle, než trvá život jedince. Odolnost proti některým infekcím může být dokonce předávána po generacích (Nicholson, 2016).

Specifčnost imunitního systému umožňuje spustit imunitní reakci pouze proti malému úseku molekuly antigenu – antigennímu determinantu, což je část antigenu, na kterou se vážou protilátky.

Schopnost rozmanitosti znamená, že organismus dokáže reagovat na nespočet antigenů a dokáže si poradit i s takovými, se kterými se nikdy nesešel nebo které byly uměle vytvořeny v laboratoři (Ferenčík et al., 2005).

1.5.2 Složky imunity

Imunita se dělí na specifickou a nespecifickou, přičemž každá z nich má mechanismy, které se podílí na buněčné a humorální složce imunity. Na imunitě se také podílí cytokiny. Jedná se o bílkoviny produkované buňkami jak imunitního systému, tak i jinými buňkami, které se uplatňují například při v regulaci imunitní odpovědi nebo v obraně proti nádorům (Bartůňková a Vernerová, 2009).

1.5.2.1 Nespecifická imunita

Nespecifická, nebo také přirozená, imunita představuje vrozenou schopnost organismu rychle reagovat proti cizím mikroorganismům a materiálům (Trojan a Langmeier, 2003). Tato

imunita nemá žádnou paměť, takže opakované setkání s určitou látkou nemá za následek rychlejší likvidaci cizorodých látek (Hořejší a Bartůňková, 2009).

První ochrannou bariérou imunitního systému je kůže a sliznice, které kryjí povrchy, kde dochází ke kontaktu s vnějším prostředím, například epitel vylučovací a pohlavní soustavy, trávicí soustavy a vývodů žláz. Buněčnou část nespecifické imunity tvoří makrofágy, granulocyty a NK buňky a jejich hlavní metody jsou fagocytóza a baktericidní mechanismy (Toman, 2000). Fagocytóza zahrnuje chemotaxi (putování za škodlivinou), její rozpoznání, pohlcení, zpracování, případně její usmrcení. Baktericidní mechanismy zahrnují produkci toxických kyslíkových radikálů, např. kysličník dusnatý (Bartůňková a Vernerová, 2002).

Humorální části tvoří systém komplementu. Jde o systém plazmatických bílkovin, které jsou produkovány především buňkami jater a v menším množství makrofágy. Funkcí komplementu je například chemotaxe nebo tvorba látek vyvolávajících zánětlivou reakci (Bartůňková a Vernerová, 2009).

1.5.2.2 Specifická imunita

Specifická imunita je vývojově mladší než nespecifická a je dokonalejší. Její buňky se účastní imunitní odpovědi pomaleji, ale mají imunologickou paměť, která při opětovném setkání s antigenem umožní rychlejší a účinnější reakci (Bartůňková a Vernerová, 2002).

Hlavními efektorovými buňkami buněčné imunity jsou T-lymfocyty, které jsou velmi důležité v obraně proti infekci, především virům, nádorovým buňkám a plísním (Trojan a Langmeier, 2003). Humorální imunitu pak zajišťují B-lymfocyty, které produkují protilátky proti antigenu, který vyvolal imunitní reakci. Protilátka se váže na buňky, které pro ni mají receptor (NK buňky, granulocyty, makrofágy) a usnadňuje tak likvidaci cizorodých látek. Existuje pět tříd protilátek: G, M, A, D a E (Bartůňková a Vernerová, 2009).

1.5.3 Imunitní odpověď

Imunitní reakce je spouštěna v reakci na antigeny, které mohou být buď cizí, nebo vlastní. Za normálních podmínek by měl systém reagovat jen na antigeny cizí, protože již v průběhu nitroděložního vývoje byla navozena imunotolerance vůči vlastním antigenům. Pokud imunitní systém napadá vlastní antigeny, a dochází při tom k poškození vlastních tkání, vznikají autoimunitní choroby (Toman, 2000).

Fyziologické imunitní odpovědi jsou téměř vždy vyvolány kombinací působení mechanismů specifické a nespecifické imunity. Jako první obvykle reagují mechanismy

nespecifické imunity, jejichž úkolem je rozpoznat cizorodé látky. Následně se aktivují různé druhy fagocytů a komplementů, které cizorodou látku zlikvidují. Organismus setkání s cizími antigeny předvídá, a proto se buňky, které se účastní specifické imunity, nachází již preventivně v organismu. Když se látka setká s lymfocylem, který má pro ni uzpůsobené receptory, daný typ lymfocytu se namnoží a antigen zlikviduje. K namnožení lymfocytů ale většinou nestačí pouze jeden signál, je potřeba druhý signál od dalších buněk imunitního systému. Tento princip má zabránit příliš snadnému a potenciálně nebezpečnému množení lymfocytů (Hořejší a Bartůňková, 2009).

Ke specifické imunitní odpovědi dochází v sekundárních lymfatických orgánech jako například slezina, mandle a mízní uzliny, kde dochází k prezentaci antigenu (Toman, 2000). Průběh imunitní odpovědi je různý v závislosti na tom, jestli se organismus s danou látkou již setkal, nebo ne. V případě že expozice již proběhla, uplatní se imunologická paměť, která je specifické imunitě vlastní (Bartůňková a Vernerová, 2009).

2 Hematologická onemocnění

2.1 Anémie

Anémie, nebo také chudokrevnost, znamená snížení počtu erytrocytů a/nebo hemoglobinu a/nebo hematokritu v normálním objemu krve (Schrey, 2009). Podle výzkumu provedeného Elizabeth Lund (2007) je výskyt anémie u psů 3 – 11 % a z běžných plemen je nejpravděpodobnější u pitbula a nejméně pravděpodobný u sibiřského husky a akity. Řeháková et al. (2010) uvádí, že psi mladší věkové kategorie (průměrný věk 5,6 roku) jsou náchylnější k imunitně zprostředkované hemolytické anémii, chronickému renálnímu selhání a posthemoragické anémii. Psi ze starší věkové kategorie (průměr 10,1 roku) trpěli pyometrou, lymfoproliferativním onemocněním a tumory. U samců převažovala onemocnění sleziny a posthemoragické anémie, zatímco u samic onemocnění tumory (Řeháková et al., 2010).

Anémie má formu regenerativní a neregenerativní (Porwit et al., 2011). Regenerativní anémie vzniká v důsledku hemolýzy nebo akutní ztráty krve (Hodges a Christopher, 2011). V takovém případě kostní dřeň správně reaguje na snížený počet červených krvinek a jejich produkci zvyšuje. Mezi takové anémie většinou patří anémie způsobené krvácením nebo hemolytické anémie (Porwit et al., 2011). Neregenerativní anémie se objevuje v mnoha případech zánětlivých nebo chronických onemocnění, neoplaziích, nedostatku železa ve stravě nebo poruch kostní dřeně (Hodges and Christopher, 2011) a jedná se o stavy, kdy kostní dřeň odpovídá na zvýšenou potřebu červených krvinek neadekvátně (Porwit et al., 2011). Doubek (2003) anémii dále dělí na mikrocytární, normocytární a makrocytární (nízký, normální nebo zvýšený střední objem erytrocytu) nebo hypochromní a normochromní (nízký nebo normální hemoglobin erytrocytu nebo střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech). Na základě míry anizocytózy erytrocytů se anémie rozděluje na anémii s anizocytózou (hemolytické anémie, sideropenické anémie, megablastové anémie) a bez anizocytózy (myelodysplazie, aplastické anémie, anémie chronických chorob, sideroblastické anémie).

K anémii může docházet ze tří důvodů. Prvním je snížená produkce červených krvinek, tedy jde o snížení nebo selhání tvorby erytrocytů v kostní dřeni (Porwit et al., 2011). K tomu dochází např. v důsledku nedostatku vitamínu B₁₂, B₆, železa, kyseliny listové nebo nedostatečné funkce kostní dřeně. Druhým důvodem je ztráta krve, nejčastěji krvácením. Třetí příčinou je nadměrná hemolýza neboli rozpad červených krvinek. Ten může být způsoben otravou chemickými látkami (zinek, nitrity a nitráty, měď) a jedy, infekcemi (anaplazmóza, babezióza, hemobartonelóza aj.) nebo poruchami některých enzymů (Faldyna et al., 2006).

Porwit (2011) uvádí ještě relativní (diluční) anémii, kterou ale Svoboda et al. (2001) považuje za anémii nepravou a při které dochází k ní ředění erytrocytů při zadržování tekutin.

Anémie se často vyskytuje jako sekundární onemocnění a doprovází další choroby (Doubek et al., 2003). V tomto případě bychom neměli mluvit o anémii, správnější je termín „anemický syndrom“ (Penka a Buliková, 2009). Jedná se o spavost, únavu, slabost, bledost kůže, sliznic, dyspnoe, tachykardie, snížené sexuální libido (Svoboda et al., 2001), dušnost, závratě, žloutenku a otoky (Faldyna et al., 2006). Tyto příznaky se vyskytují i u primární anémie a liší se podle konkrétního typu (Svoboda et al., 2001).

Pokud anémie vzniká pomalu, může se na ni organismus velmi dobře adaptovat. Někteří jedinci mohou tolerovat snížení hemoglobinu na polovinu i níže. Uplatňují se kompenzační mechanismy (Doubek, 2003) mezi které patří posun disociační křivky hemoglobinu pro kyslík (Faldyna et al., 2006) zvýšený minutový výdej srdce, zvýšený průtok krve důležitými orgány, zvýšená produkce erytropoetinu a zvýšená činnost plic (Doubek et al., 2003).

Anémie je častým nekardiogenním důvodem srdečního selhání v důsledku příliš vysokého srdečního výdeje. Ten se zvyšuje snížením periferního odporu způsobeného tkáňovou hypoxií, viskozity krve a zvýšenou produkcí katecholaminů. Následkem je dilatace srdce, vysoká srdeční frekvence a hypertrofie (Svoboda et al., 2008).

Při zvýšené krvetvorbě se do krve uvolňuje větší množství retikulocytů – nezralých erytrocytů obsahující ribozomy, polyribozomy a mitochondrie. Retikulocyty se vyskytují i v krvi zdravých zvířat. U novorozených štěňat to bývá 7 % z celkového množství červených krvinek, přičemž hodnota se snižuje do šestnácti měsíců psa, kdy se ustálí na maximální hodnotě 1,5 % z celkového množství erytrocytů (Faldyna et al., 2006).

2.1.1 Aplastická anémie

Aplastická anémie je charakterizována sníženým množstvím buněk v periferní krvi, a mimo sníženého počtu erytrocytů se může vyskytovat i snížený počet leukocytů a trombocytů (Penka a Buliková, 2009). Tato anémie vzniká vlivem několika různých poruch, včetně nádorů kostní dřeně, chronického onemocnění ledvin a dalších poruch, které ovlivňují produkci červených krvinek. Další poruchy, které tento typ anémií způsobují, jsou léčiva jako třeba chemoterapeutická činidla, sulfanoamidy, estrogeny a někdy i vystavení radiaci a toxinům (Becker, 2013). Aplastická anémie vzniká poškozením všech tří zárodečných linií krevních buněk vlivem toxického působení na buňky kostní dřeně. Ty se pak mění na nefunkční tkáň, např. tukovou (Adlerová a Hes, 2010). V případě, že je postižená jen jedna krevní řada, jedná se o aplazii červené krevní řady. Ta se může vyskytovat v podobě akutní i chronické.

Pacienti postižení aplastickou anémií vykazují anemický syndrom a je u nich běžná náchylnost ke krvácení nebo výskyt infekcí (Doubek et al., 2003).

Aplastická anémie je poměrně vzácné onemocnění zahrnující formy mírné i těžké. Příčiny této anémie bývají různé. Může jít o chorobu vrozenou, způsobenou infekčními antigeny (parvovirus B19, *Ehrlichia canis*, viry hepatitid aj.), léky a fyzikálními faktory (estrogenní preparáty u psů, ozáření aj.), nebo jedy (cyklické uhlovodíky, DDT, trichloretylen). U některých nemocných s aplastickou anémií se příčinu ani zjistit nepodaří. V takovém případě jsou pravděpodobně příčinou autoimunitní mechanismy (zničení kmenových krvetvorných buněk NK buňkami, T-lymfocyty aj.).

Při léčbě je nutné odstranění vyvolávajícího činitele, pokud je znám. V případě aplastické anémie z neznámých příčin je významná imunosuprese, používá se hlavně cyklosporin A (3 - 5 mg/kg ž. hm. na den) nebo azatrioprin (1 - 3mg/kg ž. hm. Na den) (Svoboda et al., 2001).

Akutní aplastická anémie může být po nalezení příčiny vyléčena během několika týdnů. Chronická aplastická anémie je většinou závažnější a její vyléčení trvá déle (Becker, 2013).

2.1.2 Sideropenická anémie

Sideropenická anémie patří mezi regenerativní anémie, kdy se krevní dřeň pokouší anémii kompenzovat zvýšenou produkcí erytrocytů a předčasným uvolňováním nezralých erytrocytů (Thrall et al., 2012). Jedná se o stav, kdy je v organismu absolutní nebo relativní nedostatek železa (Novotný, 2007). Organismus dokáže regulovat potřebu železa a stav jeho zásob pouze řízením příjmu, ale nedokáže řídit výdej (Alušík a Lejsková, 2006). Tato anémie se vyvíjí postupně a má tři stupně: 1. stupeň – snížené zásoby železa, 2. stupeň – snížená erytropoéza a 3. stupeň – anémie (Sahovic et al., 2012). Doubek et al. (2003) uvádí rozdělení anémie na prelatentní - kdy dochází ke snížení zásob železa v organismu, přičemž dodávka železa erytroblastům kostní dřeně zůstává nezměněná – latentní - kdy je snížená dodávka železa erytroblastům - a vlastní sideropenickou anémií.

Symptomy chronické ztráty krve zahrnují bledost, letargii a slabost (Svoboda et al., 2001). Po diagnostikování anémie by se měla okamžitě zjistit její příčina, protože by mohlo jít o symptom závažného onemocnění (Jimenez et al., 2015).

Železo ve formě hemu je nezbytné k mnoha metabolickým funkcím, včetně transportu kyslíku v hemoglobinu. Anémie z nedostatku železa se u psů běžně objevuje při chronické externí ztrátě krve, nebo při nedostatečném obsahu železa ve stravě a neprojevuje se, dokud zásoby železa ve tkáních nejsou vyčerpány. Dospělý pes by měl v potravě konzumovat

přibližně 80 mg/kg železa, přičemž štěňata potřebují větší množství z důvodu rychlého růstu a malých zásob železa. Nedostatečný příjem železa není u psů běžný a neobjevuje se u psů krmených kupovanými krmivými. Avšak může se objevit u kojených mláďat a zvířat krmených domácí stravou, především vegetariánskou. Potraviny s velkým množstvím železa jsou maso, vaječné žloutky, ústřice a sušené fazole. Naopak železa je málo v mléku a mléčných produktech a většině nezelené zeleniny (Naigamwalla et al., 2012).

Na vzniku této anémie se může podílet velké množství ektoparazitů, kteří se živí krví, jako třeba blechy a vši. Také dárci krve mohou trpět anémií, ačkoliv velmi mírnou. Podobně jako nedostatek železa se mohou v organismu projevat anémie z nedostatku mědi a vitamínu B₆ (Svoboda et al., 2001).

Terapie probíhá podáváním železa perorálně (v potravinách nebo v podobě tablet) případně parenterálně nebo intramuskulárně. Denní léčebná dávka železa by měla být 2 – 10 mg/kg živé hmotnosti. Léčba trvá půl roku i déle a mělo by se v ní vytrvat i po vrácení hodnot železa do normálu, protože se ještě musí doplnit zásoby železa v organismu. (Svoboda et al., 2001).

2.1.3 Hemolytická anémie

Hemolytická anémie se vyznačuje předčasnou destrukcí červených krvinek a objevuje se, až když dojde k porušení rovnováhy mezi tvorbou a zánikem erytrocytů. K předčasné hemolýze může docházet vlivem poruchy vrozené (patologický hemoglobin, poruchy membrány červené krvinky, defekt metabolismu erytrocytů) nebo poruchy získané. Pokud je hemolytická anémie způsobena špatnou funkcí erytrocytů, nazývá se korpuskulární, pokud je příčina mimo erytrocyt, jde o hemolytickou anémii nekorpuskulární (Doubek et al., 2003).

2.1.3.1 Imunitně zprostředkovaná hemolytická anémie

Imunitně zprostředkovaná hemolytická anémie je jedno z nejběžnějších imunohepatologických onemocnění psů. Projevuje se destrukcí erytrocytů antigeny s nebo bez komplementu. Její přítomnost se prokazuje Coombsovým testem, který identifikuje antigeny a/nebo komplementy na povrchu erytrocytů (Klag et al., 1993). Tuto anémii vyvolává cokoli, co může způsobit přítomnost imunoglobulinů na povrchu červených krvinek (Bárta et al., 2008), například chemické látky (vakcíny, léky atd.), nádorová onemocnění (lymfom), infekce a krevní parazité. V asi polovině případů příčinu onemocnění nelze prokázat, a proto se toto onemocnění řadí většinou mezi idiopatické (Sosnar a Růžička, 2002).

Při vzniku této anémie se uplatňuje hypersenzitivní reakce druhého typu, tedy cytotoxická reakce závislá na protilátkách (Faldyna et al., 2006). Ta vede k extravaskulární nebo intravaskulární hemolýze (Sosnar a Růžička, 2002). Uplatňují se především protilátky typu IgM nebo jsou červené krvinky ničeny mimobuněčně makrofágy ve slezině, kostní dřeni nebo játrech. V takovém případě se uplatňují především protilátky typu IgG (Faldyna et al., 2006).

Mezi morfologické změny erytrocytů patří anizocytóza, sférocytóza, polychromazie a výskyt nezralých forem erytrocytů (normoblastů) (Sosnar a Růžička, 2002). Na základě místa hemolýzy se odvíjí rychlost nástupu a intenzita klinických příznaků. U psů je častější intravaskulární hemolýza, kde se klinické příznaky projevují rychleji a intenzivněji. Příznaky bývají zvracení, větší množství volného hemoglobinu, poruchy jaterních enzymů, žloutenka, hemoglobin v moči (Faldyna et al., 2006), anorexie, anémie, slabost, horečka, tachykardie, systolická šelest a zrychlené dýchání (Sosnar a Růžička, 2002). V případě extravaskulární hemolýzy se často objevuje zvětšení sleziny (Faldyna et al., 2006).

Bylo prokázáno, že k této anémii jsou z plemen náchylnější bobtail, pudl, irský setr, kokršpaněl (Sosnar a Růžička, 2002) a špringršpaněl (Day, 2012). Toto onemocnění se projevuje především u středně starých až starších psů a velmi zřídka se objevuje u psů mladších jednoho roku (Day, 2012).

Při diagnóze je zjištěna především primární autoimunitní hemolytická anémie a anémie způsobená infekcemi. Pokud je způsobena infekcí, léčí se prioritně primární příčina anémie. V případě, že jsou příčinou chemikálie nebo léčiva, je nutné kontakt s léčivou nebo chemikáliemi ukončit. Při zastavení primární příčiny není nutná imunosupresivní léčba. Pokud je primární příčina neznámá, je možno zahájit imunosupresivní léčbu, ale při nezlepšení nebo zhoršení stavu musí být bezpodmínečně ukončena (Bárta et al., 2008).

Léčení imunitních a autoimunitních anémií zahrnuje léčení primární choroby, především pokud jde o infekční chorobu, transfuzi krve od správně vybraného dárce a imunosupresi prednisolonem. Pokud není léčba prednisolem efektivní, jsou použity silnější látky (např. dexamethason, cyklofosfamid, danazol, vincristin, azathioprin). Během léčby je nutné průběžně sledovat počet leukocytů a léčbu přerušit při výskytu leukopenie (Toman, 2000).

2.1.4 Přírodní léčba anémie

Krvetvorba se u zvířete může podpořit zajištěním, aby jeho organismus správně vstřebával vitamíny, bílkoviny a minerály. Pro dobré zažívání je vhodné stravu zvířete doplnit

o pankreatické enzymy, které jsou k dostání jak v prodejnách se zdravou výživou, tak v katalogích s produkty pro zvířata.

Mezi důležité vitamíny patří vitamíny skupiny B, které zajišťují materiál pro stavbu krevních buněk (Schwartz, 2014). Schwartzová (2014) doporučuje přidávat do jídla ½ dětské dávky synteticky vyráběného B-komplexu, nebo ½ čajové lžičky melasy. Na zesílení stěny krevních buněk je vhodný vitamín C podávaný v podobě askorbátu sodného, 250 – 1 000 mg dvakrát denně.

Z bylin Schwartzová (2014) doporučuje 1/8 až ½ čajové lžičky kopřivy a sibiřského ženšenu denně pokud jde o anémii a ½ až 2 čajové lžičky roztoku, připraveného z devíti kapek tinktury z koňského kaštanu rozmíchaných v 15 ml vody, při drobném krvácení, které může být přítomno při autoimunitní hemolytické anémii.

2.2 Leukémie

Leukémie patří mezi poruchy bílých krvinek a má formu akutní a chronickou (Svoboda et al., 2001) v závislosti na buněčnou morfologii, diferenciaci neoplastických buněk a klinický průběh (Wellman, 2015).

Akutní leukémie je závažné a rychle postupující onemocnění (Fiala et al., 2008) kostní dřeně, které se projevuje nadměrnou proliferací a poruchou dozrávání velmi mladých bílých krvinek (blastů). V průběhu onemocnění se v kostní dřeni nachází minimálně 30 % blastů z celkového množství bílých krvinek. Podle toho, z které krevní řady akutní leukémie vychází, se dělí na akutní leukémii myeloidní a lymfatickou (lymfoblastickou) (Svoboda et al., 2001). Fiala et al. (2008) uvádí, že je pravděpodobné, že některá zvířata mají vůči tomuto onemocnění genetickou predispozici. Zároveň ale připouští, že zatím nebyla provedena žádná studie, která by to definitivně prokazovala. Akutní leukémie se většinou projevuje obecnými příznaky jako je anorexie, únava až letargie, ztráta hmotnosti, eventuálně zvýšený příjem tekutin. Při klinickém vyšetření je běžná bledost sliznic, horečka, případně zvětšení sleziny, kulhání, zvětšení jater s nebo bez příznaků žloutenky. Zřídka jsou přítomné i neurologické abnormality (Fiala et al., 2008). Pro definitivní stanovení diagnózy akutní leukemie je nezbytné vyšetření kostní dřeně (Doubek et al. 2003).

Chronická leukémie se stejně jako akutní dělí na leukémii myeloidní a lymfatickou. Postup onemocnění je pomalejší, než u akutní formy (Wellman, 2015) a na rozdíl od ní se vyznačuje poruchou apoptózy, kdy zralé bílé krvinky neodumírají a hromadí se v krvi (Svoboda et al., 2001).

U psů s akutní a chronickou leukémií se také vyskytuje anémie, trombocytopenie, neutropenie nebo nějaká kombinace cytopenií. U většiny psů s chronickou a akutní leukémií je běžná neregenerativní anémie (Wellman, 2015).

2.2.1 Akutní myeloidní leukémie

Akutní myeloidní leukémie je stav, kdy množství buněk na úrovni blastů v krevním obraze přesahuje 5 % celkového počtu jaderných buněk (Svoboda et al., 2001). Dochází při ní k maligní přeměně pluri/totipotentní kmenové buňky, která se následně diferencuje v myeloidní nebo myelomonocytární blasty, zřídka v erytroidní nebo megakaryocytární blasty. Další množení patologických blastických buněk narušuje krvetvorbu a způsobuje anémii, granulocytopenii a trombocytopenii. Výskyt u psů je 0,02 % (Doubek et al., 2003).

Akutní myeloidní leukémie postihuje především psy mladé až středního věku, ale v některých případech se může objevit i u velmi mladých a starých zvířat (Wellman, 2015). Choroba většinou postupuje velmi rychle. Od prvních příznaků do výrazných potíží uplyne jeden nebo pár týdnů (Svoboda et al., 2001).

Léčba akutní myeloidní leukémie zahrnuje symptomatické řešení potíží pacientů (léčení infekcí, krevní transfuze a allopurinol při hyperurikemii). Léčebné postupy uplatňované u lidí ve veterinární medicíně nejsou běžné, především pro svou velkou časovou a finanční náročnost. Veterinární lékař se ale může rozhodnout pro chemoterapii a za takových případů se postupuje podobně jako u člověka (Doubek, 2003).

2.2.2 Chronická myeloidní leukémie

Chronická myeloidní leukémie je u zvířat vzácné onemocnění, ale nejčastěji se vyskytuje právě u psů (Harvey, 2001). Vychází z pluripotentní kmenové buňky, u které převládá proliferace myeloidní řady.

Počáteční fáze nemoci může probíhat měsíce i roky nepoznaně, bez závažných klinických příznaků. Pacienti jsou diagnostikováni převážně po náhodném vyšetření krevního obrazu. V druhé fázi stoupá unavitelnost a slabost, navíc se zvětšuje slezina, která může utlačovat břišní orgány. Dochází k anémii a krvácení. Během nemoci dochází postupně k dediferenciaci maligních buněk. V patogenezi se vyskytuje porucha apoptózy i porucha buněčné adheze (Svoboda et al., 2001). Zvířata s chronickou myeloidní leukémií žijí déle než s akutní formou (Wellman, 2015), ale agresivita choroby je čím dál větší, dokud nepřejde v blastickou krizi, jejíž průběh je stejný jako u akutní leukémie.

Léčba probíhá snižováním počtu leukocytů. K tomu je používána hydroxymočovina nebo busulfan. Zvíře by mělo být dostatečně hydratováno a mělo by dostávat alopurinol, který zabraňuje poškození ledvin produkty z masy leukemických buněk. Blastickou krizi je také možné ovlivnit chemoterapií (Svoboda et al., 2001).

2.2.3 Akutní lymfatická leukémie

Akutní lymfatická leukémie je u psů způsobená T-lymfocyty, B-lymfocyty, NK buňkami nebo fenotypy NK buněk (Harvey, 2001). Při tomto typu leukémie se pluri/totipotentní kmenová buňka diferencuje na lymfoblasty (Doubek et al., 2003). Často dochází k přemístění chromozomů a onkogeny se při tom přemísťují do blízkosti genů pro gamaglobuliny nebo pro receptor T-buněk, čímž dochází k jejich aktivování. U psů vzniká tento typ bez evidentní souvislosti s faktory zevního prostředí (Svoboda et al., 2001). Celkový zdravotní stav se zhoršuje v poměrně krátké době (dva až tři týdny).

Léčba akutní anémie je většinou zaměřena na zmírnění symptomů a zmírnění bolesti, ale neodstraňuje příčinu nemoci. Případně je možné použití chemoterapie (Doubek et al., 2003).

2.2.4 Chronická lymfatická leukémie

Projevy chronické lymfatické leukémie jsou podobné těm chronické myeloidní leukémie. Navíc je pro ni typické zvětšení mízních uzlin a zvětšení jater a sleziny. Často bývá doprovázena trombocytopenií a imunitně zprostředkovanou hemolytickou anémií (Svoboda et al., 2001).

Klinické symptomy jsou obdobné jako u chronické myeloidní leukémie, navíc je pro ni typické zvětšení jater a sleziny a uzlinový syndrom, což je celkové zvětšení mízních uzlin (Doubek et al., 2003).

Terapie probíhá od pokročilých stádií, kde se vyskytuje anémie a trombocytopenie, velké zvětšení jater a sleziny a opakující se infekce. Anémie se léčí buď redukcí patologických buněk, krevními transfúzemi anebo jako autoimunitní hemolytická anémie nebo autoimunitní trombocytopenie, pokud je jejich příčinou imunitně zprostředkovaná reakce. K redukci buněk se používá především chlorambucil a vinkristin, ale je možné podat i kombinovanou chemoterapii – vinkristin s cyklofosfamidem a prednisonem (Svoboda et al., 2001).

2.2.5 Přírodní léčba leukémie

Podle několika výzkumů v Japonsku, některé houby obsahují polysacharidy, které zabraňují růstu rakovinných buněk. Mezi tyto houby patří například lesklokorka lesklá, japonicum a rosolovka průsvitná.

Důležitou roli hrají také vitamíny. Nejdůležitější jsou vitamíny C a E, které posilují imunitní systém. Pes by měl přijímat maximální množství vitamínu C, které je schopen snést, aniž by začal trpět diarrihou. Doporučené dávkování je až 800 MJ vitamínu E denně spolu s 10 až 30 mg koenzymu Q10 pro zmírnění zánětu a lepší okysličení zdravých buněk (Schwartz, 2014).

2.2.6 Chemoterapie

Chemoterapie je pojem zahrnující skupinu látek schopných zničit rakovinné buňky (McCarthy, 2016). Cílem léčby je vymýtit rakovinné leukocyty, obnovit normální produkci červených a bílých krvinek v kostní dřeni a zlepšit psovi život. (PetWave, 2015). Léčba používaná u zvířat je méně agresivní, protože účelem je především zlepšení života. Toto se liší od přístupu u lidí, kde se řídí heslem „život za každou cenu“ (McCarthy, 2016). Chemoterapie tedy psa nevyлéčí, ale pomůže dosáhnout stavu remise, kdy netrpí žádnými symptomy. Někteří psi musí chemoterapii podstupovat pravidelně až do konce života (PetWave, 2015).

Projevy chemoterapie u psů jsou ve většině případů mírnější než u lidí (Stregowski, 2009). K nejčastějším vedlejším účinkům patří nevolnost, průjemy a zvracení (PetWave, 2015), dále psovi může prořádnout srst (Stregowski, 2009) nebo mohou vypadat hmatové vousky. Avšak McCarthy (2016) uvádí, že 75 – 80 % psů nevykazují žádné vedlejší příznaky.

Prognóza u psů trpících akutní leukémií není dobrá, odhaduje se, že bez léčby zahynou do čtyř týdnů. Statistiky účinnosti chemoterapie v tomto případě nejsou spolehlivé, protože většina majitelů se po seznámení s diagnózou rozhodnou psa usmrtit. U psů se správnou péčí a dobrou reakcí na chemoterapii může být život prodloužen o 1 – 6 let (PetWave, 2015).

2.3 Poruchy krevní srážlivosti

Většina dědičných poruch krevní srážlivosti je způsobena vadou nebo selháním jedné fáze hemostázy (Barr a McMichael, 2012). Poruchy první části hemostázy zahrnují onemocnění při poruchách krevních destiček, cévní stěny a Von Willebrandova faktoru. Mezi poruchy sekundární části hemostázy patří abnormality faktorů krevního srážení (Svoboda et al., 2001).

Špatná funkce krevních destiček je způsobena vnitřními nebo vnějšími vlivy. Poruchy způsobené vnějšími vlivy jsou způsobené nedostatkem vnějšího proteinu, který je nezbytný pro

funkci destiček. Nejčastější příčinou vnějších poruch je von Willebrandova porucha. Další možné příčiny vnějších poruch jsou snížená hladina fibrinogenu – hypofibrinogenemie – a abnormální forma fibrinogenu – dysfibrinogenemie. Získané poruchy fibrinogenu jsou mnohem častější než forma dědičná.

Vnitřní vlivy ovlivňují funkci destiček. Poruchy mohou být způsobeny abnormalitami v membránových receptorech, uložených granulách nebo signální transdukci.

Porucha ve funkci destiček se většinou projevuje krvácením ze slizničních povrchů, pohmožděním nebo v extrémních případech krvácením dutin (Barr a McMichael, 2012).

2.3.1 Von Willebrandova choroba

Von Willebrandův faktor (vWF) je protein nezbytný pro přilnavost destiček k místům poškozeného endotelu. Je syntetizován endotelovými buňkami a megakaryocyty a uložený v endotelových buňkách. Ve své aktivní formě vWF cirkuluje v různě velkých molekulách spojených dohromady a tvoří multimery velké 500 – 200 000 kDa (Barr a McMichael, 2012). Tyto multimery se dělí na velké, střední a malé. Nejdůležitější jsou multimery velké (Doubek et al., 2003), protože jsou nejefektivnější v podporování adheze destiček (Barr a McMichael, 2012). Společně s vWF prasete je vWF psa kompatibilní a zaměnitelné s vWF člověka (Lozier a Nichols, 2013).

Von Willebrandova choroba je nejběžnější poruchou první části hemostázy u psů. (Barr a McMichael, 2012). Jedná se o vrozené krvácivé onemocnění, které je způsobeno kvalitativní nebo kvantitativní poruchou von Willebrandova faktoru (Doubek et al., 2003). Na rozdíl od hemofilie se jedná o chorobu s autozomální dědičností (Lozier a Nichols, 2013). Je způsobena strukturálním a kvantitativním nedostatkem vWF v závislosti na typu a je dělena do tří kategorií.

Typ 1 je nejběžnější formou Von Willebrandovy choroby a vyznačuje se nízkou koncentrací multimerů, které si ale zachovaly normální funkci. Většina zvířat s tímto typem má mírné klinické příznaky doprovázeny zraněním, přítomností krve v moči nebo ztrátou mléčných zubů (Barr a McMichael, 2012). V případě vážné poruchy se Von Willebrandova choroba může projevovat i jako krvácení typické pro hemofilii a krvácení do měkkých tkání a kloubů. Podle množství vWF se dělí na podtypy Ia a Ib a vyskytuje se například u dobrmanů, pudlů nebo manchesterských teriérů.

V případě typu 2 se jedná o kvalitativní defekt (poruchu dominantně velkých multimerů) a nejčastěji se vyskytuje například u německých ohařů (Doubek et al., 2003).

Typ 3 postrádá multimery úplně (Barr a McMichael, 2012) a objevuje se například u skotských teriérů, retrívrů a šeltie (Doubek et al., 2003).

2.3.1.1 Léčba

Pro léčení Von Willebrandovy choroby je používán desmopresin, analog vasopresinu, který způsobuje uvolnění předem vytvořených multimer vWF z endotelových buněk. Pozdější dávky desmopresinu nepovedou k podstatnému zvýšení vWF, protože zásoby vWF v endotelových buňkách budou vyčerpány. Studie, které zkoumaly použití desmopresinu u psů, nezaznamenaly žádné zvýšení koncentrace vWF nebo větší množství multimer jako v případě člověka. Podání desmopresinu dobrmanům s von Willebrandovou chorobou typu 1 vedlo ke zlepšení hemostatické funkce navzdory minimálnímu zvýšení koncentrace vWF. Zlepšení hemostáze po podání desmopresinu je přisuzována zvýšení adheze destiček ke kolagennímu vazivu, zvýšené agregace destiček a zvýšení plazmy vWF. To ale nevysvětluje zlepšenou hemostázu u pacientů postrádajících receptor vWF. Nedávné spekulace naznačují, že desmopresin může poskytovat doplňkové výhody, které jsou nezávislé na vWF (Barr a McMichael, 2012).

2.3.2 Hemofilie

2.3.2.1 Hemofilie A

Hemofilie A je nejběžnější poruchou krevní srážlivosti. Tato nemoc může být dědičná nebo může jít o nově získanou mutaci, kterou jedinec může přenášet dál na své potomky jako formu dědičnou. Jedná se o recesivní onemocnění, projevující se nedostatkem faktoru VIII a vyskytuje se častěji u samců (Barr a McMichael, 2012). Charakteristickým symptomem je krvácení do měkkých tkání a kloubů, přičemž opakovaná krvácení do kloubů způsobují hemofilickou artropatii. Sklon ke krvácení se projevuje, pokud je množství faktoru VIII nižší než 25 %, přičemž při hladině 15 – 25 % nemocní krvácí jen po těžkých traumatech. Krvácivé projevy při úrovni faktoru VIII 2 – 15 % jsou vyšší a s hladinou faktoru VIII menší než 2 % dochází k těžkému krvácení (Doubek et al., 2003).

2.3.2.2 Hemofilie B

Hemofilie B je onemocnění způsobené nedostatkem faktoru IX. Jedná se o recesivní nemoc vázanou na chromozom X, ale vyskytuje se mnohem méně často než hemofilie A. Klinicky se projevuje velmi podobně jako hemofilie A (Barr a McMichael, 2012).

2.3.2.3 Léčba hemofilie

Krvácení může být ošetřeno nebo léčeno podáním psí plasmy, psího kryoprecipitátu nebo rekombinantního psího faktoru VIII (Lozier a Nichols, 2013). Preventivní opatření v případě poruchy srážlivosti je vyhýbání se drsným hrám, zbytečnému zranění a dodržování optimální dentální hygieny (Barr a McMichael, 2012).

Hemofilie A je léčena při krvácivých projevech, přičemž se usiluje o zvýšení hladiny faktoru VIII minimálně na 25 – 30 % referenční hodnoty. Léčba spočívá v aplikaci kryoprecipitátu (1 jednotka na 10 – 15 kg ž. hm. 2x denně do zástavy krvácení), desmopresinu a tranexamové kyseliny (15 – 20 mg/kg ž. hm. 2x - 4x denně perorálně). Transfuze plazmy není vhodná, protože v čerstvé plazmě je množství faktoru VIII malé a po odběru se dále snižuje.

Hemofilie B je léčena transfuzemi plazmy nebo plné krve, protože kryoprecipitát faktor IX neobsahuje (Doubek et al., 2003).

Pro každého praktika provádějícího rutinní operaci je také nutné mít po ruce hemostatická činidla jako gelovou pěnu, fibrinové lepidlo a polyethylenglykol. Vyhýbání se lékům, které snižují agregaci destiček a nesteroidním protizánětlivým lékům. Léky tlumící fibrinózu (například kyselina aminokapronová nebo tranexamové kyseliny) mohou být velmi nápomocné při zastavování krvácení po menších operacích. Jsou běžně používány u člověka a používaly se i u anglických chrtů s postoperativním krvácením. Tyto léky představují lákovou možnost pro veterináře, protože jsou levné (Barr a McMichael, 2012).

2.4 Hypersenzitivita

Hypersenzitivita I. typu je také nazývána imunopatologická reakce I. typu nebo laicky alergie (Jílek, 2002). Používán bývá také termín atopie, který označuje geneticky podmíněnou tendenci reagovat na vystavení extrémně nízkým dávkám běžných alergenů ve vnějším prostředí nadměrnou tvorbou protilátek IgE. Při následném kontaktu těchto protilátek s antigenem (alergenem) vzniká zánět, který se projevuje jako alergické onemocnění (Bartůňková a Vernerová, 2002).

2.4.1 Hlavní efekторы

Hlavními efektorovými buňkami alergických reakcí jsou žírné buňky (mastocyty) (Jílek, 2002). Zabírají $10^4 - 10^6$ na mm^3 tkání a v největším množství se vyskytují ve tkáních, které jsou vystaveny antigenům z prostředí, to znamená v kůži a dýchacím a zažívacím traktu. Na jejich povrchu se nachází řada receptorů pro imunoglobulin E, známých jako IgE-Fc receptory

(FcεRI). Na tyto receptory se navazují protilátky třídy IgE, které jsou tvořeny v odpovědi na stimulaci alergenem (Bárta et al., 2008). IgE navázaný na povrchu žírné buňky funguje jako specifický receptor pro antigen a reaguje pouze s antigenem, který vyvolal jeho tvorbu. V žírných buňkách se nachází velké množství granul, které je buňka schopna rychle uvolňovat. Tato granula obsahují biologicky velmi účinné látky, nejdůležitější je histamin (Jílek, 2002). Dále obsahují heparin, serotonin, faktor aktivující trombocyty a mnohé enzymy, např. peroxidázu, tryptázu, dismutázu superoxidů, chymázu a kyselá hydrolázy (Bárta et al., 2008).

2.4.2 Průběh

Hypersenzitivní reakce I. typu je zajišťována protilátkami typu IgE. U citlivého psa se objeví, když se alergen naváže na vazebné místo molekul IgE navázaných svým Fc fragmentem k žírné buňce nebo basofilu.

V první fázi pes prochází stádiem senzibilizace, během kterého se množí klony lymfocytů s určitým receptorem pro daný alergen a tvoří proti němu protilátky typu IgE. Toto stádium může trvat od několika dnů až po několik let a je způsobováno opakovanými malými dávkami antigenu (Toman, 2000). Možným alergenem je jakákoli cizí látka schopná vyvolat imunitní odpověď (Bartůňková a Vernerová, 2002). To zahrnuje například léčiva (antibiotika), alergeny z přírody (pyly), alergeny potravy (ryby) a mnoho dalších (Toman, 2000).

Druhá fáze se nazývá stimulace (Bárta et al., 2008) a dochází k ní navázáním IgE na receptory FcεRI na povrchu žírných buněk a basofilů. Množství molekul IgE ovlivňuje volnou pohyblivost FcεRI receptorů, a proto se přesunují k buněčnému pólu, kde vytvoří čepičku „capping“. To je signálem pro aktivaci buňky, která končí degranulací (Bartůňková a Vernerová, 2002) a uvolní se histamin (Bárta et al., 2008).

Příznaky se mohou objevit již za 2 minuty, nejpozději během 15 – 30 minut (Toman, 2000). Různé alergeny mají různé projevy, v závislosti na tom, v jaké tkáni alergická reakce probíhá (Ferenčík et al., 2005). Uvolněný histamin silně ovlivňuje hlavně hladkou svalovinu cév. Ty se jeho vlivem rozšiřují a zvyšují svoji propustnost, což má za následek zčervenání kůže, otok a pokles krevního tlaku. Naopak v průduškách dochází ke stažení, otoku epitelu a zvýšené tvorbě hlenu, což ztěžuje dýchání. Histamin uvolněný do kůže způsobuje svědění, vyrážku a kopřivku. Žlázy v nose a spojivkách tvoří větší množství tekutiny, což se projevuje jako alergická rýma nebo zánět spojivek (Jílek, 2002).

Typickými příklady reakcí I. typu jsou kopřivka, atopické kožní choroby, senná rýma nebo alergie z krmiva (Toman, 2000). V případě, že histamin působí systémově, může dojít k anafylaktickému šoku nebo astmatickému záchvatu (Jílek, 2002).

2.4.3 Anafylaktický šok

Anafylaktický šok je vážnou systémovou reakcí a je způsoben náhlým uvolněním mediátorů anafylaxe, hlavně histaminu a serotoninu. Dochází k němu nejčastěji během léčení při přecitlivělosti na léky nebo heterologní sérum, ale také při bodnutí hmyzem (Toman, 2000). Projevuje se náhlým rozšířením tepének a zvýšenou propustností stěn cév s rychlým průnikem plazmy z vlásečnic (Bárta et al., 2008). To má za následek hypovolemický šok s otoky podkoží a vnitřních orgánů.

Příznaky se liší u jednotlivých druhů zvířat v závislosti na tom, která skupina hladkých svalů je nejvíce postižena. Orgány, kde se soustředí většina patologických změn, se nazývají „šokové orgány“. Speciálně u psů bylo pozorováno stažení jaterní žíly, což má za následek, že se 60 – 70 % veškeré krve hromadí v játrech a vede až k selhání oběhu (Toman, 2000). Nedostatek kyslíku v centrálním nervovém systému může vést ke ztrátě vědomí. V případě déletrvajícího šoku může dojít k poruše funkcí vnitřních orgánů, především ledvin a mozku (Bárta et al., 2008).

Termín „anafylaxe“ byl poprvé použit roku 1911 Charlesem Robertem Richetem, pařížským lékařem a nositelem Nobelovy ceny. Richet společně s francouzským fyziologem P. J. Portierem experimentoval s podáváním menších dávek živočišných toxinů psům. Chtěli tak docílit, aby si psi proti toxinům vytvořili odolnost. Místo odolnosti se u určitých psů po podání téhož toxinu začaly objevovat těžké křeče, které často končily smrtí. Vzhledem k tomu, že vypěstování odolnosti je označováno „profylaxe“, jev byl pojmenován „anafylaxe“, protože šlo o opačný efekt (Ferenčík et al., 2005).

2.4.3.1 Léčení anafylaktického šoku

Při léčení anafylaktického šoku je hlavní zahájit léčbu okamžitě, protože anafylaktický šok může končit smrtelně. Z léčiv se používá epinefrin (adrenalin), který se používá intravenózně, intramuskulárně, intrakutánně, subkutánně nebo intratracheálně a to co nejdříve. K uvolnění průdušek je používán efedrin a je také možno použít teofyllin nebo aminofylin nebo trimeprazin, který je dražší, potlačuje svědění a z části i působení histaminu (Bárta et al., 2008). Pro nápravu oběhových funkcí, především krevního tlaku, jsou nutná analeptika (Toman, 2000).

2.4.4 Léčba alergií

Alergie je možno léčit desenzibilizací (také hyposenzibilizace nebo imunoterapie) a dále léčebnými přípravky jako jsou antihistaminika, kortikosteroidy a chromoglykát sodný, metylxantinové deriváty a léky, které působí proti mediátorům alergické reakce (Toman, 2000).

Imunoterapie je léčba alergie založená na desenzibilizaci vůči specifickému alergenu. Provádí se různě, záleží na tom, jak je zvíře vystaveno alergenu, kolik alergenu je v roztoku, jestli je alergen sezónní a jaká je kožní reakce na daný alergen (Toman, 2000). Principem léčby je podávání čím dál větších dávek alergenu v tzv. „neutralizačních dávkách“, což je největší množství alergenu, které při kožním testu nezpůsobuje alergickou reakci. Cílem desenzibilizace je vyvolání tvorby specifických T-lymfocytů, které potlačí alergickou reakci, a IgG protilátek specifických pro konkrétní antigen. Ty se pak vážou s alergenem, brání jeho spojení s IgE na senzibilizovaných žírných buňkách a tím i rozvoji alergické reakce.

Alergen je podáván injekčně intradermálně nebo subkutánně veterinárním lékařem nebo poučeným majitelem (Bárta et al., 2008) v intervalu 2 – 4 týdnů. Jedna kúra má být dokončena před začátkem alergické sezóny (Toman, 2000). Pro snížení možnosti anafylaktického šoku se zvíře nemá kolem doby aplikace injekce krmit nebo cvičit. Až hodinu po injekci má být pozorováno pro případ, že by injekce alergenu vyvolala systémovou reakci. V takovém případě se zvíře ošetří epinefrinem a pokračuje se v desenzibilizaci s dávkou sníženou na 1/5 dávky (Bárta et al., 2008), Toman (2000) udává 1/2 dávky, která vyvolala systémovou reakci. Desenzibilizace je ukončena, pokud došlo k úspěšné desenzibilizaci nebo k další systémové reakci. U psů se úspěšnost pohybuje mezi 30 % až 75 % (Bárta et al., 2008).

Při symptomatické léčbě jsou nejčastěji používána antihistaminika. Nejlepší jsou jako forma preventivního opatření, protože blokují receptory histaminu a alergickou reakci tak znemožňují. Uvolňování histaminu také zabraňují kortikosteroidy a chromoglykát sodný, které stabilizují membránu žírných buněk a tím ovlivňují jejich degranulaci.

Methylxantinové deriváty (např. aminofylin, theofylin) snižují uvolňování mediátorů zánětu a zároveň rozšiřují průdušky. Aminofylin je používán perorálně.

V akutních případech jsou používány léky antagonistické k mediátorům alergické reakce, které způsobují vazokonstrikci a bronchodilataci. Mezi takové látky patří adrenalin, theofylin, efedrin a trimeprazim (Toman, 2000).

3 Závěr

Cílem práce bylo nastudovat a shrnout dosavadní poznatky o hematologii, základních hematologických parametrech a krevních funkcích a popsat vybraná krevní onemocnění vyskytující se u psa. Dostupných aktuálních materiálů z této oblasti je nedostatek, navíc nejnovější publikace a články jsou především v anglickém jazyce. Práce proto může sloužit jako základní přehled pro chovatele o vlastnostech a funkcích krve, jejích složkách a nemocech, se kterými se chovatelé můžou u svých mazlíčků potýkat.

Při studiu odborných publikací zabývajících se léčbou hematologických onemocnění psů jsem zjistila, že některé metody se nijak neliší od metod používaných u člověka. Domnívám se, že by se u psů mohlo využívat mnohem více metod sloužících v humánní medicíně. Bohužel finanční nároky na využití těchto metodik jsou často finančně příliš náročné.

Tato práce přináší ucelený literární přehled o různých typech hematologických onemocnění u psa a možnostech jejich léčby. Při léčbě se sice většina lidí bude spoléhat na rady svého veterináře, ale mohou tuto práci využít jako zdroj informací, aby mohli dělat zasvěcenější rozhodnutí.

4 Seznam literatury

- Acierno, M. M., Raj, K., Giger, U. 2014. DEA 1 Expression on dog erythrocytes analyzed by immunochromatographic and flow cytometric techniques. *J Vet Intern Med.* 28. 592 – 598.
- Adlerová L., Hes, O. 2010. Vědomostní test – odpovědi. *Veterinární klinika.* 7. 70 – 71.
- Allison, R., Campbell T. W., Thrall, M. A., Weiser G. 2012. *Veterinary hematology and clinical chemistry.* Wiley-Blackwell. Chichester. 776 p. ISBN: 9780813810270.
- Bárta, O., Codner, E. C., Pickett, J. P., Shell, L. G. 2008. *Veterinární klinická imunologie: imunitní choroby domácích zvířat.* CERM. Brno. s. 322. ISBN: 978-80-7204-553-2.
- Barr, J. W., McMichael, M. 2012. Inherited Disorders of Hemostasis in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine.* 27. 53 – 58.
- Bartůňková, J., Vernerová, E. 2002. *Imunologie a alergologie.* Triton. Praha. 83 s. ISBN: 80-7254-289-3.
- Blais, M-C., Berman, L., Oakley, D. A., Giger, U. 2007. Canine Dal blood type: A red cell antigen lacking in some dalmatians. *J Vet Intern Med.* 21. 281 – 286.
- Day, M. J. 2012. Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *Consultant on Call – Internal medicine/Immunology.* 53 – 57.
- Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Fűrll, M. (eds.). 2003. *Veterinární hematologie.* Noviko. Brno. 464 s. ISBN:80-86542-02-5.
- Doubek, J., Šlosárková, S., Řeháková, K., Bouda, J., Scheer, P., Piperisová, I., Tomenedálová J., Matalová, E. 2010. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. *Noviko. Brno.* s. 102. ISBN: 978-80-86542-22-5.
- Eurell, J. A. C. 2004. *Veterinary histology.* Teton NewMedia. Jackson. 120 p. ISBN: 1-893441-95-4
- Faldyna, M., Kudláčková, H., Knötigová, P., Toman, M. 2006. Hemolytické anémie a jejich průkaz Coombsovým testem. *Veterinářství.* 56. 533 – 536.
- Ferenčík, M., Rovenský, J., Shoenfeld, Y., Mařha, V. 2005. *Imunitní systém – informace pro každého.* Grada Publishing. Praha. 236 s. ISBN: 80-247-1196-6.
- Fiala, T., Kvapil, P., Alexa, M. 2008. Akutní leukémie psů – popis čtyř případů. *Veterinářství.* 58. 3 – 9.

- Fragío, C., Daza, M. A., García E. 2009. Transfuciones sanguíneas en perros y gatos. *Clin. Vet. Peq. Anim.* 29. 229 – 238.
- Harvey J. W. 2001. *Atlas of veterinary hematology: Blood and bone marrow of domestic animals.* W. B. Saunders Company. Philadelphia. 228 p. ISBN: 978-0-7216-6334-0.
- Hodges, J., Christopher, MM. 2011. Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 238. 1452 – 1458.
- Hořejší, V., Bartůňková J. 2009. *Základy imunologie.* Triton. Praha. 304 s. ISBN: 978-80-7387-280-9.
- Jimenez, K., Kulnigg-Dabsch, S., Gasche, Ch. 2015. Management of Iron Deficiency Anemia. *Gastroenterology & Hepatology.* 11. 241 – 250.
- Jílek, Petr. 2002. *Základy imunologie.* Ewopharma s.r.o. Praha. 75 s. ISBN: 80-238-8594-4.
- Kessler, R. J., Reese J., Chang, D., Seth, M., Hale, A. S., Giger, U. 2010. Dog erythrocyte antigens 1.1., 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. *Vet Clin Pathol.* 39. 306-316.
- Klag, A. R., Giger, U., Shofer, F. S. 1993. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986 – 1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 202. 783 – 788.
- Lanevski, A., Wardrop, K. J. 2001. Principles of transfusion medicine in small animals. *Can Vet J.* 42. 447 – 454.
- Lozier, J. N., Nichols, T. C. 2013. Animal Models of Hemophilia and Related Bleeding Disorders. *Semin Hematol.* 50(2). 175 – 184.
- Lund, E. 2007. Population analyses of anemia in pets. *DataSavant.* 807. 16 – 24.
- Naigamwalla, D. Z., Webb, J. A., Giger, U. 2012. Iron deficiency anemia. *Can Vet J.* 53. 250 – 256.
- Nicholson, L. B. 2016. The immune systém. *Essays in Biochemistry.* 60. 275 – 301.
- Novotný, J. 2007. Sideropenická anémie. *Med. Pro Praxi.* 11. 390 – 394.
- Penka, M., Buliková, A. (eds.) 2009. *Neonkologická hematologie.* Grada. Praha. 248 s. ISBN: 978 – 80 – 247 – 7015 – 4.

- Porwit, A., McCullough, J., Erber, W. N. 2011. Blood and bone marrow pathology. Churchill livingstone/Elsevier. 708 p. ISBN: 978-0-7020-3147-2.
- Řeháková, K., Uhríková, I., Trnková, Š., Doubek, J. 2010. Hematologické vyšetření u anemických psů: 71 případů (2007 – 2009). Veterinární klinika. 7. 32 – 36.
- Sahovic, S., Vukobrat-Bijedic, Z., Sahovic, V. 2012. Importance of sideropenic anemia in the diagnosis of gastrointestinal tract tumors. Mat Soc Med. 24. 81 – 83.
- Schrey, Ch. F. 2009. Hlavní symptomy a hlavní nálezy u psa a kočky. Grada Publishing. Praha. 472 s. ISBN: 978-80-247-2467-6.
- Schwartz, Ch. 2014. Přírodní léčba pro psy a kočky od A do Z. Anch Books. 129 s. ISBN: 978-3-9815576-9-5.
- Schwartz, Ch., Eberle J. U., Voehringer D. 2015. Basophils in inflammation. European Journal of Pharmacology. 778. 90 – 95.
- Siracusa, M. C., Kim, B. S., Spergel, J. M., Artis, D. 2013. Basophils and allergic inflammation. J Allergy Clin Immunol. 132(4). 788 – 789.
- Sosnar, M., Růžička M. 2002. Autoimunitní hemolytická anémie u psa – popis případu. Veterinářství. 52. 274 – 275.
- Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. (eds.). 2008. Nemoci psa a kočky – 1. díl. Noviko. Brno. s. 1152. ISBN: 978-80-86542-18-8.
- Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. (eds.). 2001. Nemoci psa a kočky – 2. díl. Noviko, a.s. Centa, spol. s.r.o. Brno. 1026 s. ISBN: 80-902595-3-7.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison R. W., Campbell T. W. 2012. Veterinary Hematology and clinical chemistry. Wiley – Blackwell. 776 p. ISBN: 978-0-8138-1027-0.
- Tizard, I. R. 2004. Veterinary immunology: An Introduction. Saunders. Philadelphia. 494 p. ISBN: 978-0721601366.
- Trojan, S., Langmeier, M. (eds). 2003. Laékařská fyziologie. Grada Publishing. Praha. 772 s. ISBN: 80-247-0512-5.
- Toman, M. 2000. Veterinární imunologie. Grada Publishing. 413 s. ISBN: 80-7169-727-3.
- Wardrop, K. J. 2007. New red blood cell antigens in dogs and cats – a welcome discovery. J Vet Intern Med. 21. 205 – 206.

Online zdroje

Dr. Becker discusses anemia in pets. 21. 1. 2013. Youtube video. Dostupné z <<https://www.youtube.com/watch?v=KL4wfmGWnX8>>

Holmes P. H., Jain, N. C., Waltisbuhl, D. J., Bernstein, M., Campbell, K. L., Fan, T. M., Jorgensen, W. K., Payne, S. L. Red blood cells of dogs [online]. The Merck Veterinary manual. July 2011. [cit. 2016-08-25] Dostupné z <http://www.merckvetmanual.com/pethealth/dog_disorders_and_diseases/blood_disorders_of_dogs/red_blood_cells_of_dogs.html>

McCarthy, C. Chemotherapy for Dogs: Everything you need to know [online]. PetMD. 7. května 2016 [cit. 2017-03-05] Dostupné z <<http://www.petmd.com/dog/general-health/chemotherapy-dogs-everything-you-need-know>>

PetWave. Treatment and prognosis for leukemia in dogs [online]. PetWave. 16. července 2015 [cit. 2017-05-03] Dostupné z: <[http://www.petwave.com/Dogs/Health/Leukemia/Treatment.a\[online\]spx](http://www.petwave.com/Dogs/Health/Leukemia/Treatment.a[online]spx)>

Stregowski, J. Chemotherapy for dogs [online]. Dogtime. 28. května 2009 [cit. 2017-03-05]. Dostupné z <<http://dogtime.com/dog-health/general/5179-dogs-cancer-treatment-jenna-stregowski>>

Wellman, M. L. A practical guide to leukemia in dogs and cats [online]. Columbus, OH, USA. Department of Veterinary Biosciences, College of Veterinary Medicine, The Ohio State University. 29. 10. 2015 [cit. 2016-10-12] Dostupné z <<https://www.idexx.eu/globalassets/documents/congress/elp2015/practical-guide-to-leukemia-finland-2015.pdf>>