

6. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Thrombozytenaggregation, einem wichtigen In-vitro-Verfahren für die Beurteilung der Plättchenfunktion. Die Plättchenaggregation wurde sowohl bei insgesamt 160 klinisch gesunden Hunden untersucht, um Referenzbereiche zu erstellen als auch bei Hunden mit verschiedenen Krankheiten, die beim Menschen regelmäßig mit Veränderungen der Thrombozytenfunktion assoziiert sind. Letzteres umfaßte Hunde mit chronischer Niereninsuffizienz (n=17), Diabetes mellitus (n=8), Plasmozytom (n=2), Leishmaniose (n=3), Leberzirrhose (n=2), Leberzelldegeneration (n=2) sowie je einen Hund mit portosystemischem Shunt und sekundärer Hyperfibrinolyse. Mit der standardisierten Methode von BORN, die auf der photometrischen Messung der Lichttransmission im plättchenreichen Plasma nach Induktion der Plättchenaggregation beruht, wurde in einem Aggregometer unter Einsatz von verschiedenen Aggregationsstimulatoren mit unterschiedlichen Endkonzentrationen (ADP : 0,5 - 50 μ M; Kollagen : 0,5 - 20 μ g/ml; Thrombin : 0,1 - 5 IU/ml; Ristocetin : 1 - 10 mg/ml; Epinephrin : 5 - 50 μ M) die Plättchenaggregation [Aggregationsmaximum (%), maximaler Gradient (%/min)] untersucht.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Referenzbereiche mit einer unteren Grenze des Aggregationsmaximums über 80 % ergaben sich für folgende Stimulatorkonzentrationen : ADP : 50 μ M (82,8 - 99,2 %), 25 μ M (80,3 - 97,6 %); Kollagen : 20 μ g/ml (82,0 - 99,5 %), 10 μ g/ml (80,3 - 95,6 %); Thrombin : 5 IU/ml (81,8 - 99,1 %), 2 IU/ml (80,1 - 97,2 %), 1 IU/ml (80,0 - 96,7 %). Mit Ristocetin und Epinephrin konnte keine deutliche Plättchenaggregation ausgelöst werden.

Bei allen Patienten wurde nur eine Auswahl an verschiedenen Konzentrationen der einzelnen Aggregationsstimulatoren eingesetzt.

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (n=17) war besonders auffällig, daß das Aggregationsmaximum mit allen drei eingesetzten Induktoren in den niedrigen Konzentrationen [ADP 0,5, 1 μ M, (z.B.: 1 μ M Median : 41,1 %, Kontrollgruppe : 16,2 %, p < 0,001), Kollagen : 0,5, 1 μ g/ml, (z.B.: 1 μ g/ml : Median : 57,9 %, Kontrollgruppe : 13,4 %, p < 0,05), Thrombin : 0,1, 0,2 IU/ml, (z.B.: 0,2 IU/ml : 66,2 %, Kontrollgruppe : 36,3 %, p < 0,001)] im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöht war. Der maximale Gradient war dagegen nur mit ADP (0,5 und 1 μ M) und mit Thrombin (0,2 IU/ml) signifikant erhöht. Andererseits fanden sich bei hohen Konzentrationen der Stimulatoren bei Hunden mit chronischer Niereninsuffizienz Anzeichen einer Hypoaggregabilität anhand eines signifikant verminderten maximalen Gradienten [z.B. 25 μ M ADP : 126,5 %/min (Median), Kontrollgruppe : 163,4 %/min, p < 0,001; 10 μ g/ml Kollagen : 92,6 %/min, Kontrollgruppe : 127,6 %/min, p < 0,001; 1 IU/ml Thrombin : 102,3 %/min, Kontrollgruppe : 159,1 %/min, p < 0,001].

Patienten, die an einem Diabetes mellitus erkrankt waren, zeigten als einzige auffällige Veränderung ein mit einzelnen Konzentrationen der Stimulatoren [10 μ M ADP : 74,7 % (Median), Kontrollgruppe : 87,0 %, p < 0,01; 5 μ g/ml Kollagen : 68,7 %, Kontrollgruppe : 87,0 %, p < 0,001 und 1 IU/ml Thrombin : 82,0 %, Kontrollgruppe : 90,4 %, p < 0,05] signifikant gleichwohl geringfügig reduziertes Aggregationsmaximum im Vergleich zur Kontrollgruppe. Signifikante Veränderungen hinsichtlich des maximalen Gradienten waren nicht feststellbar.

Zwei Hunde mit Plasmozytom wiesen im Vergleich zu klinisch gesunden Hunden ein deutlich vermindertes Aggregationsmaximum mit den Induktoren ADP (z.B.: 50 μ M : 69,4 bzw. 16,4 %, 25 μ M : 58,9 bzw. 14,4 %), Kollagen (z.B.: 20 μ g/ml : 59,1 bzw. 21,6 %, 10 μ g/ml : 56,3 bzw. 17,4 %) und Thrombin (z.B.: 5 IU/ml : 72,1 bzw. 51,1 %, 2 IU/ml : 65,4 bzw. 36,9 %, 1 IU/ml : 65,3 bzw. 32,3 %) auf. Weniger auffällig waren die Meßergebnisse der maximalen Gradienten, die nur in einigen Konzentrationen vermindert waren.

Uneinheitlich waren die Ergebnisse der Thrombozytenaggregation bei drei Patienten mit Leishmaniose. Hier zeigten sich nur bei einem Hund deutliche Veränderungen der Plättchenaggregation mit unterschiedlichen Stimulatoren (ADP 25 μM : 50,0 %; Kollagen 10 $\mu\text{g/ml}$: 51,1 %; Thrombin 1 IU/ml : 51,2 %).

Von zwei Patienten mit Leberzirrhose war nur bei einem Hund nach Stimulation mit ADP und Kollagen ein vermindertes Aggregationsmaximum zu messen, zwei Patienten mit Leberzelldegeneration hatten keine Veränderungen der Plättchenaggregation, während ein Hund mit einem porto-systemischem Shunt mit allen geprüften Konzentrationen der Aggregationsinduktoren ein deutlich reduziertes Plättchenaggregationsmaximum im Vergleich zum Referenzbereich hatte (z.B. : 25 μM ADP : 59,7 %; 10 $\mu\text{g/ml}$ Kollagen : 8,4 %; 1 IU/ml Thrombin 66,8 %)

Auch ein Hund mit sekundärer Hyperfibrinolyse infolge eines malignen, metastasierenden Hämangioendothelioms hatte nach Auslösung der Aggregation mit ADP, Kollagen und Thrombin sowohl ein deutlich reduziertes Aggregationsmaximum (z.B.: 25 μM ADP : 59,0 %, 10 $\mu\text{g/ml}$ Kollagen : 16,9 %, 1 IU/ml Thrombin 35,9 %) als auch eine deutliche Verminderung des maximalen Gradienten im Vergleich zum Referenzbereich.

Die vorliegende Untersuchung unterstreicht die Bedeutung von Thrombozytenaggregationsstörungen beim Hund mit verschiedenen Erkrankungen, wobei die vom Menschen bekannten Veränderungen nicht in allen Fällen bestätigt werden konnten.

7. Summary

Urte Schulze (1998)

Investigations in platelet aggregation in dogs

It was the aim of this study to examine the platelet aggregation which is a substantial in - vitro - method for evaluating the function of blood platelets. In order to ascertain reference ranges clinically healthy dogs (n=160) were investigated. In addition, dogs with various diseases were investigated which are regularly associated with disorders of platelet function in human beings. The latter included dogs with chronic renal failure (n=17), diabetes mellitus (n=8), plasmacytoma (n=2), leishmaniasis (n=3), liver cirrhosis (n=2), hepatic degeneration (n=2), as well as one dog each with portosystemic shunt and secondary hyperfibrinolysis.

By the aid of the standardized BORN method - based on the photometrical measurement of light transmission in platelet rich plasma after induced platelet aggregation - the platelet aggregation [aggregation maximum (%), maximum gradient (%/min)] was investigated using an aggregometer and various aggregating agents in different concentrations (ADP : 0,5 - 50 μ M, collagen : 0,5 - 20 μ g/ml, thrombin : 0,1 - 5 IU/ml, ristocetin : 1 - 10 mg/ml, epinephrin : 5 - 50 μ M).

The following results were obtained:

Reference ranges for the aggregation maximum with a lower limit beyond 80 % were obtained using the following aggregating agents final concentrations: ADP : 50 μ M (82,8 - 99,2 %), 25 μ M (80,3 - 97,6 %), collagen : 20 μ g/ml (82,0 - 99,5 %), 10 μ g/ml (80,3 - 95,6 %), thrombin : 5 IU/ml (81,8 - 99,1 %), 2 IU/ml (80,1 - 97,2 %), 1 IU/ml (80,0 - 96,7 %)

Ristocetin and epinephrin could not induce an obvious platelet aggregation.

Samples of patients were investigated using only selected concentrations of particular aggregation agents

In patients with chronic renal failure it was particularly remarkable that the aggregation maximum with all three applied inducers in low concentrations [ADP 0,5, 1 μ M, (e.g.: 1 μ M : median : 41,1 %, controlgroup : 16,2 %, $p < 0,001$), collagen : 0,5, 1 μ g/ml, (e.g.: 1 μ g/ml : 57,9 %, controlgroup : 13,4 %, $p < 0,05$), thrombin : 0,1, 0,2 IU/ml, (e.g.: 0,2 IU/ml : 66,2 %, controlgroup : 36,3 %, $p < 0,001$)] was higher compared to the control group. The significant increase of the maximum gradient was limited to 0,5 and 1 μ M ADP and 0,2 IU/ml thrombin. In contrast to these results with high concentrations of aggregating agents in dogs with chronic renal failure primarily a significantly reduced maximum gradient was found indicating hypoaggregability [e.g. 25 μ M ADP: 126,5 %/min (median), controlgroup: 163,4 %/min, $p < 0,001$; 10 μ g/ml collagen: 92,6 %/min, controlgroup: 127,6 %/min, $p < 0,001$; 1 IU/ml thrombin: 102,3 %/min, controlgroup: 159,1 %/min, $p < 0,001$].

The striking changes of platelet aggregation in patients with diabetes mellitus were restricted to specific aggregating agent concentrations, where the aggregation maximum was slightly but significantly reduced as compared to the control group [10 μ M ADP : 74,7 % (median), control group : 87,0 %, $p < 0,01$; 5 μ g/ml collagen : 68,7 %, control group : 87,0 %, $p < 0,001$; 1 IU/ml thrombin : 82,0 %, control group : 90,4 %, $p < 0,05$] No significant changes could be realized concerning the maximum gradient.

Two dogs with plasmacytoma - compared to clinically healthy dogs - had a distinctly lower aggregation maximum with the inducers ADP (e.g. 50 μ M : 69,4 resp. 16,4 %, 25 μ M : 58,9 resp. 14,4 %), collagen (e.g.: 20 μ g/ml : 59,1 resp. 21,6 %, 10 μ g/ml : 56,3 resp. 17,4 %) and thrombin (e.g.: 5 IU/ml : 72,1 resp. 51,1 %, 2 IU/ml : 65,4 resp. 36,9 %, 1 IU/ml : 65,3 resp. 32,3 %). The measurement results of maximum gradients where only some of the concentrations were reduced were less remarkable.

The results of the platelet aggregation of three patients with leishmaniasis were different. Only one of the dogs showed obvious alterations of the platelet

aggregation with various aggregating agents (e.g.: 25 μ M ADP : 50,0 %, 10 μ g/ml collagen : 51,1 %, 1 IU/ml thrombin : 51,2 %).

Only one of two dogs with liver cirrhosis had a reduced aggregation maximum with ADP and collagen while two patients with hepatic degeneration had no alterations of platelet aggregation.

The dog with portosystemic shunt presented a clearly reduced platelet aggregation maximum with all aggregation inducers when compared to the reference range (e.g. : 25 μ M ADP : 59,7 %, 10 μ g/ml collagen : 8,4 %, 1 IU/ml thrombin : 66,8 %).

A dog with secondary hyperfibrinolysis in consequence of a malignant metastasizing haemangioendothelioma had also a clearly reduced aggregation maximum using ADP (e.g.: 25 μ M : 59,0 %), collagen (e.g.: 10 μ g/ml : 16,9 %) or thrombin (e.g. 1 IU/ml : 35,9 %) as well as an obviously decreased maximum gradient with all these aggregating agents.

This investigation emphasizes the relevancy of platelet aggregation disturbances in dogs with various diseases, whereas the alterations known from humans could not be confirmed in all cases.