

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

**PARAMETRI HEMOSTAZE PRI PSIH Z
BRAHICEFALIČNIM SINDROMOM
PRED IN PO KIRURŠKEM POSEGU**

**PARAMETERS OF HAEMOSTASIS IN DOGS WITH
BRACHYCEPHALIC SYNDROME BEFORE AND
AFTER SURGICAL TREATMENT**

Luka Šparaš
Rebeka Turk

Ljubljana, julij 2020

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 636.7.09:616.24-008.4:636.082:617-089:612.11/.12(043.2)

**PARAMETRI HEMOSTAZE PRI PSIH Z
BRAHICEFALIČNIM SINDROMOM
PRED IN PO KIRURŠKEM POSEGU**

**PARAMETERS OF HEMOSTASIS IN DOGS WITH
BRACHYCEPHALIC SYNDROME BEFORE AND
AFTER SURGICAL TREATMENT**

Luka Šparaš
Rebeka Turk

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom doc. dr. Vladimire Erjavec, dr. vet. med. in somentorstvom izr. prof. dr. Alenke Nemec Svete, univ. dipl. ing. kem. ing., na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani

Ljubljana, julij 2020

POVZETEK

Ključne besede: Bolezni psov; kranifacialna anomalija – kirurgija; obstrukcija dihalnih poti – kirurgija; predoperativno obdobje – kri; pooperativno obdobje – kri; kemična analiza krvi; hematološki testi; izid zdravljenja; psi.

Namen raziskave je bil oceniti zdravstveno stanje psov z brahicefaličnim sindromom ter ugotoviti ali slaba prehodnost zgornjih dihalnih poti pri teh psih povzroči spremembe parametrov hemostaze, ki kažejo na prisotnost stanja pospešenega strjevanja krvi. To se lahko odraža v povečani številčni koncentraciji trombocitov, skrajšanih koagulacijskih časih, protrombinskem času in aktiviranem delnem tromboplastinskem času, ter povišani koncentraciji D-dimerov. Zato smo v raziskavi hemostazo ocenjevali z določanjem omenjenih parametrov in ocenili vpliv kirurškega zdravljenja na te parametre. V raziskavo smo vključili 100 lastniških psov - 74 z brahicefaličnim sindromom, 18 zdravih brahicefalikov ter 8 mezocefaličnih mešancev, ki so predstavljali kontrolno skupino. Glede na stopnjo izraženosti sindroma smo pse z brahicefaličnim sindromom razvrstili v 3 kategorije in jih kirurško zdravili. Pri vseh psih smo ob vključitvi določili parametre hemostaze ter opravili hematološke in biokemijske preiskave ter plinsko analizo krvi. Omenjene preiskave, z izjemo biokemijskih preiskav, smo pri psih z brahicefaličnim sindromom ponovno opravili en mesec po operaciji. Ugotovili smo, da je imelo 41 % vseh brahicefaličnih psov ob vključitvi v raziskavo trombocitozo. Psi v 2 in 3 kategoriji brahicefaličnega sindroma ter zdravi brahicefaliki so imeli, ob vključitvi v raziskavo, značilno višjo številčno koncentracijo trombocitov in trombokrit v primerjavi s kontrolno skupino psov. Ostali parametri hemostaze se niso razlikovali med kontrolno skupino in skupinami brahicefaličnih psov. Kirurško zdravljenje ni vplivalo na izbrane parametre hemostaze, je pa izboljšalo klinično sliko in s tem kakovost življenja psov v vseh kategorijah brahicefaličnega sindroma. V naši raziskavi nismo ugotovili sprememb parametrov hemostatskega profila, ki bi kazali na stanje pospešenega strjevanja krvi pri psih z brahicefaličnim sindromom in zdravih brahicefalikih. Trombocitoza, visoke vrednosti povprečnega volumna trombocitov in trombokrita pri brahicefaličnih psih kažejo na to, da imajo trombociti določeno vlogo pri brahicefaličnem sindromu.

SUMMARY

Dog diseases; craniofacial abnormalities – surgery; airway obstruction – surgery; preoperative period – blood; postoperative period – blood; chemical blood analysis; hematologic tests; treatment outcome; dogs.

The study aimed to evaluate the health status of dogs with the brachycephalic syndrome and to find out whether the obstruction of the upper airway leads to changes in haemostatic parameters, indicative of a hypercoagulable state in these dogs. The hypercoagulable state may be reflected by thrombocytosis, shortened blood coagulation times (prothrombin time, and activated partial thromboplastin time), and increased D-dimer concentration; therefore, we evaluated haemostasis by measuring mentioned parameters. Additionally, we assessed the effect of surgical treatment on selected haemostatic parameters. One hundred client-owned dogs were included in the study; 74 dogs had clinical signs of brachycephalic syndrome, 18 were healthy brachycephalic dogs, and 8 were mesocephalic mixed breed dogs, serving as the control group. Dogs with clinical signs of the brachycephalic syndrome were categorized into 3 groups based on the severity of the syndrome and treated surgically. Upon inclusion in the study, haemostatic, haematological and biochemical parameters, and blood gas analyses were performed in all dogs. One month after the surgical treatment, haemostatic and haematological parameters and blood gas analyses were performed again. Thrombocytosis was found in 41% of all brachycephalic dogs upon inclusion in the study. Additionally, brachycephalic dogs in categories 2 and 3, as well as asymptomatic brachycephalic dogs, had significantly higher platelet count and plateletcrit than dogs in control group. Other haemostatic parameters did not differ significantly among groups of brachycephalic dogs and control dogs upon inclusion in the study. The surgical treatment did not affect haemostatic parameters; however, it reduced clinical signs substantially and thus improved the quality of life of dogs in all three categories of the brachycephalic syndrome. The results of our study did not demonstrate changes of haemostatic parameters indicative of a hypercoagulable state in dogs with the brachycephalic syndrome and asymptomatic brachycephalic dogs. Thrombocytosis, high mean platelet volume and plateletcrit in brachycephalic dogs suggest the specific role of platelets in brachycephalic breeds.

SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

ALT	alanin-aminotransferaza
AP	alkalna fosfataza
APTČ	aktivirani delni tromboplastniški čas (angl. Activated Partial Thromboplastin Time)
BOS	brahicefalični obstruktivni sindrom (angl. Brachycephalic Upper Airway Obstructive Syndrome)
BASO	bazofilni granulociti
BE ecf	presežek baze v zunajcelični tekočini (angl. Base Excess in extracellular fluid)
CT	računalniška tomografija (angl. Computed Tomography)
EOS	eozinofilni granulociti
FFP	palatoplastika z obrnjenim režnjem (angl. Folded Flap Palatoplasty)
HCO ₃ ⁻	hidrogen karbonatni ion / bikarbonatni ion
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
IQR	interkvartilni razmik (angl. Interquartile Range)
i/m	intramuskularno
ITM	indeks telesne mase
i/v	intravenozno
LIMFO	limfociti
LUC	patološke celice (blasti, veliki reaktivni limfociti, veliki reaktivni monociti) (angl. Large Unstained Cells)
MCH	povprečna količina hemoglobina v eritrocitu (angl. Mean Cell Hemoglobin)
MCHC	povprečna koncentracija hemoglobina v eritrocitu (angl. Mean Cell Hemoglobin Concentration)

MCV	povprečni volumen eritrocita (angl. Mean Cell Volume)
MONO	monociti
MPV	povprečni volumen trombocita (angl. Mean Platelet Volume)
NEUT	nevtrofilni granulociti
OSA	obstruktivna spalna apneja (angl. Obstructive Sleep Apnea)
pCO ₂	delni tlak ogljikovega dioksida (angl. Partial Pressure of Carbon Dioxide)
PCT	trombokrit (angl. Platelecrit)
pO ₂	delni tlak kisika (angl. Partial Pressure of Oxygen)
p/o	peroralno
PLT	številčna koncentracija trombocitov (angl. Platelet count)
PČ	protrombinski čas (angl. Prothrombin Time)
RBC	številčna koncentracija eritrocitov (ang. Red Blood Cell count)
s/c	subkutano
SD	standardni odklon (angl. Standard Deviation)
TF	tkivni faktor (angl. Tissue Factor)
TNF- α	tumor nekrotizirajoči faktor-alfa (angl. Tumor Necrosis Factor-alpha)
TT	telesna teža
WBC	številčna koncentracija levkocitov (angl. White Blood Cell Count)

KAZALO VSEBINE

POVZETEK	ii
SUMMARY	iv
SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV	v
KAZALO VSEBINE	vii
KAZALO TABEL	ix
KAZALO SLIK	x
1 UVOD	11
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	11
1.2 CILJ RAZISKOVANJA	13
1.3 DELOVNE HIPOTEZE.....	13
2 PREGLED LITERATURE	14
2.1 PSI BRAHICEFALIČNIH PASEM	14
2.1.1 Tipi glave - brahicefalija in dovzetne pasme	14
2.1.2 Priljubljenost brahicefaličnih pasem.....	16
2.1.3 Anatomske značilnosti	16
2.1.4 Klinični znaki	18
2.1.5 Klinični pregled in anamneza.....	20
2.1.6 Prebavne težave	21
2.1.7 Krvožilni sistem.....	22
2.1.8 Zdravljenje	23
2.1.8.1 Konzervativno zdravljenje.....	23
2.1.8.2 Kirurško zdravljenje.....	24
2.2 OBSTRUKTIVNA SPALNA APNEJA (OSA).....	26
2.3 KRONIČNI UČINKI BRAHICEFALIČNEGA SINDROMA	27
2.3.1 Hipomagneziemija	28
2.3.2 Kronično vnetje	28
2.4 HEMOSTAZA IN NJENI PARAMETRI.....	29
2.4.1 Žilno trombocitno obdobje - primarna hemostaza	29
2.4.1.1 Trombociti.....	30
2.4.1.2 Trombocitoza.....	31

2.4.2	Koagulacija krvi - sekundarna hemostaza.....	31
2.4.3	Fibrinoliza	34
2.4.4	Hiperkoagulabilnost.....	35
2.5	IZBRANE KOAGULACIJSKE PREISKAVE	37
2.5.1	Protrombinski čas (PČ) oz. enostopenjski protrombinski čas.....	38
2.5.2	Aktiviran delni tromboplastinski čas (APTČ).....	38
2.5.3	D-dimeri	39
2.5.4	Odstopanja vrednosti koagulacijskih časov, PČ in APTČ	40
3	MATERIALI IN METODE	41
3.1	IZBIRA PACIENTOV IN RAZVRŠČANJE V KATEGORIJE	41
3.2	ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV KRVİ	42
3.3	LABORATORIJSKE PREISKAVE.....	44
3.3.1	Koagulacijske preiskave	44
3.3.2	Hematološke in biokemijske preiskave	44
3.3.3	Plinska analiza krvi.....	45
3.4	ANESTEZIJA.....	45
3.5	KIRURŠKO ZDRAVLJENJE.....	47
3.6	STATISTIČNA ANALIZA	47
4	REZULTATI	49
4.1	OPISNI PODATKI PSOV, VKLJUČENIH V RAZISKAVO	49
4.2	REZULTATI HEMATOLOŠKIH, BIOKEMIJSKIH IN KOAGULACIJSKIH PREISKAV IN PLINSKE ANALIZE KRVİ OB VKLJUČITVI V RAZISKAVO.....	51
4.3	PARAMETRI HEMOSTAZE PRED IN PO OPRAVLJENEM KIRURŠKEM POSEGU.....	63
5	RAZPRAVA	67
6	SKLEPI	78
7	ZAHVALA	79
8	LITERATURA	80

KAZALO TABEL

Tabela 1: Opisni podatki psov, vključenih v raziskavo.....	50
Tabela 2: Rezultati osnovnih hematoloških parametrov pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo..	52
Tabela 3: Relativne (%) in absolutne ($\times 10^9/L$) vrednosti parametrov diferencialne bele krvne slike pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo.	53
Tabela 4: Koncentracija elektrolitov pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo.....	55
Tabela 5: Biokemijski parametri pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in in kontrolni skupini (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo.	56
Tabela 6: Parametri plinske analize venske krvi pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo.	58
Tabela 7: Vrednosti številčne koncentracije trombocitov, povprečnega volumna trombocitov in trombokrita pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo.....	60
Tabela 8: Koagulacijski parametri pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo	62
Tabela 9: Vrednosti številčne koncentracije trombocitov, povprečnega volumna trombocitov in trombokrita pred in po opravljenem kirurškem posegu v treh kategorijah psov z brahicefaličnim sindromom in pri kontrolni skupini psov	64
Tabela 10: Koagulacijski parametri pred in po kirurškem posegu pri psih v treh kategorijah brahicefaličnega sindroma in pri kontrolni skupini psov.	66

KAZALO SLIK

Slika 1: Francoski buldog.....	15
Slika 2: Položaj psa za kirurško krajšanje mehkega neba.....	25
Slika 3: Proces koagulacije krvi (povzeto po Austin, 2013)	32
Slika 4: Fibrinoliza (povzeto po Mischke, 2012a).....	35
Slika 5: Oskrba psa s kisikom	46

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Psi brahicefaličnih pasem imajo spremenjeno obliko lobanje, saj so se kosti obraznega dela zaradi deformacije hrustančevine (hondrodisplazija) močno skrajšale in deformirale, kar je povzročilo, da je lobanja postala krajša in širša. Pri tem so mehka tkiva ostala nespremenjena, zato so v močno skrajšani lobanji prenatrpana in tvorijo številne gube, ki zožujejo dihalne poti in tako onemogočajo normalen pretok zraka skozi dihala (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Zaradi ekstremne vzreje so psi z brahicefalijo skoraj v celoti izgubili nos, spremembe pa so se zgodile tudi v grlu in žrelu. V zadnjih nekaj desetletjih so postali klinični znaki pri teh živalih resnejši. Resne dihalne težave se pojavijo že pri zelo mladih psih, običajno okoli drugega leta starosti in se progresivno slabšajo, kar pomeni, da takšna žival težko diha še naslednjih šest do osem let. Ker psi zelo težko prenašajo dihalne težave, so pod velikim stresom, kar resno poslabša tudi njihovo kakovost življenja (Oechtering, 2010). Vzredili smo torej pse, ki ne morejo normalno dihati, se ne morejo normalno gibati, igrati in tekati. Telesni napor jim predstavlja stres, mnogi se celo ne morejo normalno prehranjevati in spati. Vse to samo zato, ker menimo, da so zaradi ravnega obraza takšni psi ljubki. Dobrobit psov je zelo prizadeta, mnogi trpijo več let, z njimi pa tudi lastniki, saj bi naredili vse, da bi jim olajšali življenje (Meola, 2013; Feng in sod., 2017; Liu in sod., 2017a). Tako pri nas kot drugod po svetu je kljub vsem težavam, ki jih te pasme imajo, zadnja leta opazen izrazit porast števila psov brahicefaličnih pasem, kot so mops, bostonski terier in francoski buldog (Fawcett in sod., 2019).

Brahicefalični sindrom je zapletena, progresivna bolezen s širokim spektrom kliničnih znakov, ki prizadene le pse določenih brahicefaličnih pasem. Primarno sta prizadeta dihalni in prebavni sistem (Fasanella in sod., 2010; Packer in Tivers, 2015; ter Haar in Sanchez, 2017).

Številni lastniki psov z brahicefaličnim sindromom poročajo o izrazito neakovostnem spancu svojih psov, med spanjem smrčijo, se prebujajo in hlastajo za zrakom. V najhujšem primeru se lahko žival zaradi spalne apneje celo zaduši, saj se med spanjem mehka tkiva povsem sprostijo, popolnoma zaprejo dihalne poti in onemogočijo pretok zraka skozi grlo (Meola, 2013; Fawcett

in sod., 2019). Podobne težave imajo tudi ljudje, ki trpijo za obstruktivno spalno apnejo (OSA) (Gabryelska in sod., 2018; Osman in sod., 2018; Zihlerl, 2018).

Pri psih z brahicefaličnim sindromom, pa tudi pri zdravih psih brahicefaličnih pasem, težave z dihanjem vodijo v pomanjkanje kisika, kar povzroča številne sistemske učinke. Pri teh pasmah ugotavljajo respiratorno acidozo, nizek delni tlak kisika, povečan delni tlak ogljikovega dioksida (Hoareau in sod., 2012; Dias in sod., 2016), povečano koncentracijo srčnega troponina I (Planellas in sod., 2012, Planellas in sod., 2015), provnetnih in protivnetnih citokinov (Rancan in sod., 2013) ter nenazadnje spremembe v tromboelastogramu, ki kažejo na prisotnost hiperkoagulabilnega stanja (Hoareau in Mellema, 2015; Crane in sod., 2017). Vse naštetu pa lahko povzroča zaplete v poteku osnovne bolezni.

1.2 CILJ RAZISKOVANJA

Namen študije je oceniti zdravstveno stanje psov z brahicefaličnim sindromom ter ugotoviti ali slaba prehodnost zgornjih dihalnih poti pri teh psih povzroči motnje hemostaze, ki se odražajo v spremembi številčne koncentracije trombocitov, protrombinskem (PČ) in aktiviranem delnem tromboplastinskem času (APTČ) ter spremembah koncentracije razgradnih produktov zamreženega fibrina, D-dimerov. Nadalje želimo ugotoviti vpliv kirurškega zdravljenja na omenjene parametre hemostaze. Glede na to, da tovrstnih podatkov v obstoječi literaturi ni, predstavlja predlagana raziskava izviren prispevek k znanosti.

Obstruktivna spalna apneja je najpogostejša motnja spanja pri ljudeh, vendar se pri psih brahicefaličnih pasmem pri spanju pojavljajo podobne težave kot pri ljudeh. Tudi psi imajo zožene zgornje dihalne poti, zaradi česar med spanjem prenehajo dihati, smrčijo in so v hipoksiji. Posledično se pri njih pojavljajo številne sistemske težave, vključno z motnjami hemostaze. V literaturi je zelo malo znanega o motnjah hemostaze pri psih brahicefaličnih pasem.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

1. Slaba prehodnost zgornjih dihalnih poti pri psih z brahicefaličnim sindromom povzroči motnje hemostaze, ki se odražajo v povečani številčni koncentraciji trombocitov, skrajšanem PČ in APTČ ter povečani koncentraciji D-dimerov.
2. Kirurško zdravljenje psov z brahicefaličnim sindromom vpliva na parametre hemostaze: zmanjša številčno koncentracijo trombocitov, normalizira koagulacijske čase, PČ in APTČ, ter zmanjša koncentracijo D-dimerov.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 PSI BRAHICEFALIČNIH PASEM

Majhni karizmatični psi brahicefaličnih pasem, ki ne potrebujejo veliko gibanja in so glede oskrbe precej nezahtevni, so skoraj idealni hišni ljubljenci. Žal pa zaradi svojih anatomskih značilnosti in brahicefalije potrebujejo veliko več veterinarske pomoči kot drugi psi. Poleg tega so pri skrbi za kožne gube, parjenju in kotenju odvisni od človeške pomoči.

S selekcijo se je lobanja psov skrajšala, za mehka tkiva pa je začelo primanjkovati prostora. Zaradi skrajšanja obraznega dela lobanje pri določenih pasmah psov, je prišlo do takih anatomskih sprememb predvsem zgornjih dihal, ki so močno zožena, da normalno dihanje ni več možno, (Koch in sod., 2003; Hedlund, 2007; Dupre in Poncet, 2010). Za brahicefalični obstruktivni sindrom (BOS) so, poleg drugih anatomskih sprememb, najbolj značilne zožane nosnice, izvihane grlne vrečke, predolgo in predebelo mehko nebo (Torrez in Hunt, 2006; Riecks in sod., 2007; Ginn in sod., 2008) ter nosnožrelne školjke (Grand in Bureau, 2011).

Pse brahicefaličnih pasem, ki imajo izražen brahicefalični sindrom, prepoznamo po znatnih zdravstvenih težavah. Takšni psi imajo pogosto težave z dihanjem in ohlajanjem, zaradi česar niso zmožni fizičnih aktivnosti, nemalokrat pa sta pri njih prizadeta tudi prebavni trakt ter krvožilni sistem (Oechtering, 2010; Meola, 2013).

Kombinacija primarnih in sekundarnih anatomskih sprememb lahko v terminalni fazi privede celo do življenjsko ogrožujočega kolapsa grla, zato je zgodnje prepoznavanje in zdravljenje sindroma zelo pomembno, saj se na ta način lahko močno izboljša kakovost življenja teh psov (Meola, 2013).

2.1.1 Tipi glave - brahicefalija in dovzetne pasme

Glede na tip glave delimo pse v mezocefalične, brahicefalične¹ in dolichocefalične tipe psov. Značilna predstavnika mezocefaličnega tipa psa, ki je po obliki najbolj podoben svojemu predniku volku, sta labradorec in nemški ovčar. Dolichocefalični psi imajo ozek in dolg gobec, predstavniki teh psov so hrti. Brahicefalične pasme pa imajo izjemno kratek gobec, tipični predstavniki so mops, angleški in francoski buldog ter bostonski terier (Meola, 2013).

Do nastanka brahicefaličnih pasem je privedla selekcijska vzreja, torej parjenje psov s čim krajšimi gobci. Kakovost življenja in dobrobit teh živali je močno prizadeta. Povprečna življenjska doba psov brahicefaličnih pasem je 8,6 let, kar pomeni, da je 3 do 4 leta krajša od življenjske dobe psov enake velikosti z normocefaličnimi lobanjami, ki v povprečju živijo 12,7 let (Meola, 2013; Liu in sod., 2017b; Fawcett in sod., 2019). Med ekstremno brahicefalične pasme uvrščamo francoskega (Slika 1) in angleškega buldoga ter mopsa. Te tri pasme so, poleg ostalih obolenj, 3,5-krat bolj dovzetne za težave z zgornjimi dihalni kot psi normocefaličnih pasem, torej psi z normalno dolžino gobca (Fawcett in sod., 2019).



Slika 1: Francoski buldog
Figure 1: French bulldog
(Vir: Rebeka Turk)

¹ brahicefalija - pojav nesorazmerno kratke glave v antero-posteriorni smeri (brez kraniosinostoze ali s kraniosinostozo) sin. brachycephalia, brahiocefalija, kratkoglavost. - Slovenski medicinski slovar.

V Sloveniji opažamo, da imajo velike dihalne težave tudi bostonski terierji in ši-cu-ji. Nasprotno pa imajo nemški bokserji, ki so tudi brahicefalična pasma psov, le redko prisoten brahicefalični sindrom.

Poleg ekstremnih brahicefalikov v skupino brahicefaličnih psov sodijo še mnoge druge pasme. Viri se pri navajanju psov brahicefaličnih pasem med seboj razhajajo, a vsi mednje uvrščajo tako majhne kot velike pasme psov. Med najbolj tipične predstavnike spadajo mops, angleški in francoski buldog, bostonski terier, pekinčan, ši-cu, Karlov španjel in nekatere druge pasme ter križanci teh pasem (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

2.1.2 Priljubljenost brahicefaličnih pasem

Tako pri nas kot drugje po svetu je zadnja leta opazen izrazit porast števila psov brahicefaličnih pasem, za katere so značilne velike oči in kratek gobec z ravnim obraznim delom glave, na katerem koža tvori številne gube. Od leta 2007 beleži Kinološka zveza Velike Britanije (UK Kennel Club) 3104-odstotni porast v številu registriranih francoskih buldogov, 193-odstotni porast registriranih mopsov in 96-odstotni porast vseh ostalih registriranih buldogov. V letu 2019 so postali francoski buldogi najštevilčnejši psi v Združenem kraljestvu in s tem prehiteli dolga leta najpopularnejšo pasmo labradorca (Fawcett in sod., 2019).

Kljub vsem znanim težavam, ki jih imajo brahicefalične pasme, jih ljudje vedno pogosteje izberejo za svoje ljubljence. Priljubljeni so predvsem zaradi svojega značaja in značilnega videza, ki s kratkim gobcem ter velikimi očmi, spominja na glavo dojenčka. So tudi zelo prijazni, neustrašni, veseli in imajo radi otroke. Ne potrebujejo veliko aktivnosti, so majhni in s tem zelo primerni za stanovanja, kar močno ustreza današnjemu načinu življenja in živlenskimi trendom. Priljubljeni so tudi zato, ker jih imajo mnogi slavni ljudje. Njihov videz pritegne množice, zato se mnogokrat pojavljajo v reklamah, na oblačilih, embalaži pasje hrane in ostalih izdelkih, ki njihovo popularnost le še stopnjujejo (Feng in sod., 2017; Fawcett in sod., 2019).

2.1.3 Anatomske značilnosti

Psi brahicefaličnih pasem imajo zelo spremenjeno obliko lobanje. Zaradi zgodnje ankiloze bazokranialnega epifiznega hrustanca pride do motnje razvoja in rasti osnovnega dela zatilnice ter osnovne zagozdnice. To vodi v močno skrajšanje bazokranialne osi lobanje. Psi brahicefaličnih pasem imajo značilno kratek gobec, saj je zgornja čeljust precej krajša od spodnje (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Obrazne kosti so se močno skrajšale, pri tem so mehka tkiva ostala nespremenjena, zato so v močno skrajšani lobanji prenatrpana in tvorijo številne gube, ki zožujejo dihalne poti in onemogočajo normalen pretok zraka skozi zgornje dihalne poti (Dupre, 2008; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

Poznamo primarne in sekundarne anatomske spremembe.

Primarne anatomske spremembe so prirojene spremembe, med katere spadajo zoženi nosnici, natrpane nosne strukture, predolgo mehko nebo, prevelik jezik in številne gube sluznice grla in žrela (Fasanella in sod., 2010; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Nosnici brahicefalikov sta zoženi, pri nekaterih psih sta celo zaprti. Zožen je tudi nosni preddvor (vestibulum) in prostor med nosnimi školjkami (konhe). Zožanje nosnic je prisotno pri 17-77 % populacije psov brahicefaličnih pasem (Meola, 2013). Pri psih brahicefaličnih pasem se oblika in velikost frontalnih sinusov in nosnih školjk močno razlikuje od tistih pri normocefaličnih pasmah psov. Pri francoskem buldogu so frontalni sinusi izjemno majhni, mopsi pa jih sploh nimajo. Nosne školjke so pri 21% psov brahicefaličnih pasem nepravilnih oblik (displastične in hiperplastične). Ker se spremenjene školjke obrnejo proti žrelu, pride do zapore odprtin (hoan), preko katerih se obe polovici nosne votline odpirata v žrelo, kar povzroči obstrukcijo nazofaringealnega meatusa (Oechtering, 2010; Meola, 2013). Jezik je pri nekaterih psih zelo dolg in zadebeljen (makroglosija). Značilen predstavnik brahicefalikov s predolgim jezikom je mops: mnogim psom te pasme jezik neprestano visi iz ustne votline (Oechtering, 2010; Packer in Tivers, 2015; ter Haar in Sanchez, 2017). Najpogostejša primarna anatomska sprememba, je predologo in predebelo mehko nebo, ki se pojavi pri 85-100 % psov z brahicefaličnim sindromom (Findji in Dupre, 2013; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Pri psih brahicefaličnih pasem je meja med mehkim in trdim nebom v primerjavi z mezocefaličnimi pasmami pomaknjena nazaj (kavdalno), zato se lahko zgodi, da mehko nebo delno zapre grlo in moti pretok zraka med vdihom in izdihom (Dupre, 2008; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Mehko nebo pogosto sega 1 do 2 cm preko epiglotisa (Dupre, 2008). Vzrok za zadebeljeno in podaljšano mehko nebo ni

povsem jasen, zato še ni mogoče določiti, ali je ta sprememba primarna ali nastane sekundarno, kot posledica oteženega dihanja zaradi zoženih dihalnih poti (Meola, 2013).

Do oteženega in glasnega dihanja najpogosteje pride, ker pes odvečno tkivo v žrelu, ki ga predstavljajo predvsem predolgo mehko nebo in sluznične gube, vdihne v grlno špranjo (*rima glotis*) (Dupre, 2008; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Med primarne spremembe sodi še zožen (hipoplastičen) sapnik, ki pa je prisoten redkeje, samo pri 13% psov (Meola, 2013).

Zoženje zgornjih dihalnih poti močno poveča upor pri prehodu zraka med dihanjem, kar povzroči negativni tlak v dihalnih poteh. Zagotovitev zadostne oskrbe s kisikom zato psom brahicefaličnih pasem predstavlja velik napor (Fasanella in sod., 2010; Meola, 2013; ter Haar in Sanchez, 2017).

Povečanje negativnega zračnega tlaka povzroča draženje sluznice na ozkih dihalnih poteh, zaradi česar pride do zatekanja in pretiranega povečanja (hipertrofije) sluznice, kar dodatno zoži dihalne poti in stanje še poslabša. Po daljšem času oteženo dihanje, za katerega je značilen podtlak v dihalih, povzroči sekundarne anatomske spremembe. Pes se znajde v začaranem krogu (Fasanella in sod., 2010; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015; ter Haar in Sanchez, 2017).

Izvihanje grlne sluznice, ki tvori grlne vrečke (53-66 %) in izvihanje mandljev iz tonzilarnih kript (9-56 %), veljata za najpogostejši sekundarni anatomski spremembi. Pojav grlnih vrečk je začetni znak sesedanja grla (kolaps grla I). Pri nadaljnjem poteku grlnega sesedanja, pride do upogibanja grlnih hrustancev proti grlni špranji (kolaps grla II), hrustanca se lahko dotakneta in celo prekrijeta (kolaps grla III). Sesedanje grla se pojavi pri 50- 95 % psov z brahicefaličnim sindromom. Z grlnim sesedanjem je povezano tudi sesedanje glavnih sapnic, ki po navadi prizadene levi kranialni bronhus in je pogosto pri mopsih (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015; Fawcett in sod, 2019).

2.1.4 Klinični znaki

Brahicefalični sindrom je zapletena, progresivna bolezen s širokim spektrom kliničnih znakov, ki prizadene le pse določenih brahicefaličnih pasem. Primarno sta prizadeta dihalni in prebavni sistem (Fasanella in sod., 2010; Packer in Tivers, 2015; ter Haar in Sanchez, 2017), poleg tega

pa se pri psih brahicefaličnih pasem pojavljajo še nezmožnost fizičnega napora in ohlajanja, težave s spanjem, očmi, nevrološkim stanjem, reprodukcijo, kožo in skeletom, na primer hemivertebre in preoblikovane repne kosti.

Klinične znake brahicefaličnega sindroma delimo na dihalne in prebavne. Odvisni so od tega, katere anatomske strukture so spremenjene in v kolikšni meri. Klinični znaki so lahko komaj opazni ali zelo izraziti, na primer, ko je dihalna pot zaradi sesedenega grla in odvečnega tkiva v ustnem delu žrela skoraj povsem zaprta in pes posledično zelo težko diha (Oechtering, 2010; Meola, 2013; Feng in sod., 2017). Klinični znaki so lahko tako izraziti, da je potrebna takojšnja veterinarska pomoč (Oechtering, 2010; Meola, 2013; Fawcett in sod., 2019).

Psi naravno dihajo skozi nos, zato jim, v kolikor je dihanje skozi nos oteženo, to predstavlja veliko težavo – pri fizičnem naporu, razburjenju ali višji temperaturi okolja se niso več sposobni ohlajati (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

Najbolj značilni dihalni klinični znaki, ki jih opažamo pri psih z brahicefaličnim sindromom, so:

- oteženo in glasno dihanje – večji napor ob vdihu in nato hiter ter otežen izdih,
- trebušno (abdominalno) dihanje, pri katerem se prsni koš s pomočjo trebušnih mišic prekomerno razširi, zaradi česar povečan negativni tlak v prsni votlini vleče trebuh v prsni koš,
- piskajoči in sikajoči šumi, slišni med dihanjem zaradi zožitve dihalne poti (stridor in stertor),
- kašljanje,
- spalna apneja – pes ima težave s spanjem, se pogosto zbuja in smrči, med spanjem prihaja do epizod, ko pes za kratek čas preneha dihati,
- široka stoja prednjih nog,
- nezmožnost fizičnih naporov (dolgi sprehodi, igra),
- nezmožnost ohlajanja,
- modrikavost sluznic zaradi nezadostne oskrbe s kisikom (cianoza) in

- izguba zavesti (kolaps) (Trappler in Moore, 2011a; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

Z dihalnimi kliničnimi znaki so tesno povezani tudi klinični znaki prebavnega sistema.

Mednje sodijo oteženo požiranje, motnje v požiranju (disfagija), pogosto davljenje, spahovanje, prekomerno slinjenje, bruhanje in regurgitacija (Poncet in sod., 2005; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

Znaki se ob naporu, razburjenju in višji zunanji temperaturi stopnjujejo. V toplejših mesecih lahko zaradi nezmožnosti ohlajanja zelo hitro pride do pregretja in kolapsa živali (Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

Številni lastniki psov z brahicefaličnim sindromom poročajo o izrazito nekovostnem spancu svojih psov: ti med spanjem smrčijo, se prebujajo in hlastajo za zrakom. Marsikateri pes lahko spi samo v položaju z dvignjeno glavo in iztegnjenim vratom. V hujših primerih se žival sama nauči namestiti tako, da ima med spanjem odprta usta. Včasih vzame med zobe kakšen predmet ali pa se z zgornjo čeljustjo nasloni tako, da ima odprta usta in si s tem sprosti dihalne poti. V najhujšem primeru se lahko žival zaradi spalne apneje celo zaduši, saj se med spanjem mehka tkiva povsem sprostijo, popolnoma zaprejo dihalne poti in onemogočijo pretok zraka skozi grlo (Meola, 2013; Fawcett in sod., 2019).

2.1.5 Klinični pregled in anamneza

Poleg tega, da opravimo osnovni klinični pregled, ki je enak za vse pasme, smo pri psih brahicefaličnih pasem vedno pozorni še na morebitne zožene nosnice in na dihanje psa. Prisotnost stridorja in stertorja ter oteženo dihanje med pregledom so lahko zgodnji znaki brahicefaličnega sindroma. Pomembno je, da se z lastnikom pogovorimo o morebitnih težavah, ki kažejo na prisotnost brahicefaličnega sindroma. Vprašati moramo, kako aktiven je pes, ali se hitro utruji, ali glasno diha in hrope med igranjem in spanjem in ali med spanjem smrči. Klinični znaki se pri nekaterih psih pojavijo že zelo zgodaj, ko so še mladiči. Preveriti moramo frekvenco dihanja, barvo sluznic, čas polnjenja kapilar in telesno kondicijo psa, ki jo ocenimo tako, da izračunamo indeks telesne mase. Če je žival v dihalni stiski, lahko opazimo cianotične sluznice. Psi se značilno postavijo v držo z nekoliko navzven upognjenima komolcema in

iztegnjenim vratom, saj jim to omogoča lažje dihanje. Pri psih, ki imajo hkrati tudi druge težave, opravimo nadaljnje preiskave, ki lahko vključujejo obremenitveni test, pregled srca in slikovno diagnostiko (rentgensko slikanje in CT). Natančen pregled dihal opravimo z endoskopsko preiskavo, za katero je žival potrebno sedirati in nato anestezirati. Lastniki se morajo zavedati, da lahko med pripravo živali pride do akutnega poslabšanja dihanja. Veterinarsko osebje mora takega psa znati pravilno in pravočasno oskrbeti (MacPhail, 2013; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015).

2.1.6 Prebavne težave

Psi brahicefaličnih pasem imajo zaradi izrazitih dihalnih težav pogosto težave tudi s prebavili. Pogostejše se pojavijo pri samcih kot pri samicah in pri psih z zelo izrazitim brahicefaličnim sindromom (Poncet in sod., 2005). Nastanejo zaradi oteženega dihanja, saj zaradi podtlaka v prsni votlini trebušne organe vleče proti prsni votlini. Dokazana je tudi povezava med stopnjo izraženosti brahicefaličnega sindroma in pogostostjo pojava prebavnih težav (Poncet in sod., 2005; Mellema in Hoareau, 2014a). Prebavne težave se kažejo kot oteženo ali boleče požiranje (disfagija), ki se pojavi pri 44,5 % prizadetih živali, pogostejše bruhanje, ki se pojavi pri 55,6 % živali in zatekanje zaužite vsebine ali slin iz želodca nazaj v požiralnik (regurgitacija) (Poncet in sod., 2005; Fawcett in sod., 2019). Psi z brahicefaličnim sindromom so dovzetni tudi za gastroezofagealni refluks (Shaver in sod., 2017).

Pogostost prebavnih težav je odvisna od pasme. Pojavijo se pri 16 % mopsov, medtem ko ima prebavne težave 98 % francoskih buldogov. Francoski buldogi so še posebej dovzetni za pojav gastroezofagealnega refluksa, kar pomeni, da želodčni sok zateka v požiralnik (Shaver in sod., 2017). Pri tej pasmi najpogostejše pride tudi do hiatusne hernije, pri kateri želodec zdrsne v požiralnik in iz njega. Pogosto nastopi skupaj z gastroezofagealno refluksno boleznijo (Reeve, 2017; Fawcett in sod., 2019). Po poročanju lastnikov se težave pri požiranju največkrat izrazijo, ko so psi navdušeni in razigrani, ali ko pride do oteženega dihanja (Poncet in sod., 2005).

Težave v zgornjih prebavilih so z endoskopskim pregledom odkrili pri 97 % psov, čeprav ti psi niso kazali nobenih kliničnih znakov. Pojavljale so se spremembe na prebavilih, ki so bile vnetne in nevnetne narave. Težave v zgornjih prebavilih se najpogostejše pojavljajo v požiralniku, na želodcu in na dvanajstniku (Poncet in sod., 2005; Mellema in Hoareau, 2014a).

Med težave na požiralniku spadajo:

- Odklon (deviacija) požiralnika, ki se pojavlja predvsem pri francoskih buldogih. Vzrok te težave ni potrjen, vendar se domneva, da je lahko posledica skrajšanega prsnega koša. Psom se zaradi odklona požiralnika v njem zadržujeta slina in hrana, kar lahko ob razburjenosti živali vodi v pretirano slinjenje. Kisla vsebina iz želodca draži področje grla, žrela in požiralnika, zaradi česar žleze v sluznici proizvajajo še več sline, ki otežuje dihanje (Poncet in sod., 2005; Reeve, 2017; Fawcett in sod., 2019).
- Vnetje požiralnika (ezofagitis) in razjede na njem (Poncet in sod., 2005; Mellema in Hoareau, 2014a).
- Kila (hiatusna hernija), pri kateri se želodec izboči proti prsni votlini v svetlino požiralnika (Poncet in sod., 2005).
- Gastroezofagealni refluks (Mellema in Hoareau, 2014a).

Med težave na želodcu sodijo pilorična hiperplazija, pilorična stenoza, bolezensko zmanjšanje tonusa mišic (atonija) pilorusa ali nenormalno odprt pilorus, ki povzroča vračanje želodčne vsebine v požiralnik, atonija prehoda med požiralnikom in želodcem (kardije), zastajanje (retencija) hrane v želodcu, vnetje želodčne sluznice (gastritis), vračanje soka iz dvanajstnika v želodec (duodenogastrični refluks). Med težave na dvanajstniku pa prištevamo vnetje - duodenitis (Meola, 2013; Mellema in Hoareau, 2014a).

Želodčno-prebavne težave lahko zelo zmanjšamo z operativnim posegom krajšanja in tanjšanja mehkega neba ter širjenja nosnic. Po navedbah lastnikov, ki so bili vključeni v raziskavo Ponceta in sodelavcev, pride v 91,4 % primerov do izboljšanja prebavnih težav in v 88,3 % primerov do izboljšanja dihalnih težav (Poncet in sod., 2005).

2.1.7 Krvožilni sistem

Dolgotrajno povečan napor pri diahnu lahko vpliva tudi na delovanje krvožilnega sistema. Povečan upor pri dihanju in negativni zračni tlak v dihalnih poteh, lahko povzročata hipoksično vazokonstrikcijo in pljučno hipertenzijo. Pri psih z izraženim brahicefaličnim sindromom se pogosto pojavi neravnovesje med vazoaktivnimi substancami, ki dodatno pripomore h krčenju

žil in razvoju pljučne hipertenzije. Posledica pljučne hipertenzije je lahko remodeliranje desne polovice srca (Williams, 2017; Canola in sod., 2018). Francoski buldogi z izraženimi znaki brahicefaličnega sindroma so v povprečju imeli večji premer desnega ventrikla, kot francoski buldogi brez izraženih znakov brahicefaličnega sindroma. Povečanje premera desnega ventrikla nakazuje na remodeliranje desne polovice srca (Domanjko in sod., 2019).

2.1.8 Zdravljenje

Zdravljenje brahicefaličnega sindroma je predvsem kirurško. Čeprav so v preteklosti mnogi kirurgi svetovali kirurški poseg samo pri mlajših živalih, se danes operira tudi starejše živali z izraženim brahicefaličnim sindromom. Naše izkušnje so pokazale, da se je po operaciji stanje izboljšalo vsem živalim, res pa je izboljšanje večje pri tistih, ki nimajo resnih degenerativnih sprememb in pri tistih, ki niso uvrščene v najvišjo kategorijo brahicefaličnega sindroma. Zapleti se pojavijo v prvih dneh po posegu, na naši kliniki v manj kot 5 %, medtem ko je smrtnost pod 2 %.

2.1.8.1 Konzervativno zdravljenje

Konzervativna oziroma nekirurška terapija je primerna za pse z blagimi znaki brahicefaličnega sindroma ter za pse, ki zaradi različnih vzrokov, niso primerni za kirurški poseg. Dolgoročno konzervativno zdravljenje brahicefaličnega sindroma vključuje predvsem uravnavanje telesne teže in spremembo okolja. Prekomerna telesna teža psov je pomemben prognostični faktor za razvoj brahicefaličnega sindroma in vpliva tudi na stopnjo izraženih kliničnih znakov. Pri pretežkih psih ima lahko izguba odvečne telesne teže oz. zmanjšanje indeksa telesne mase (ITM), podobne učinke kot sam operativni poseg. Psi s klinično izraženimi znaki brahicefaličnega sindroma se morajo izogibati aktivnostim, ki povečujejo njihovo potrebo po kisiku. To so na primer pretirana fizična aktivnost, stres in izpostavljenost vročini. Na sprehode jih ne peljemo v vročini in jih držimo pretežno v senci. Psa peljemo na krajši sprehod v hladnejšem delu dneva. Pes naj bo na oprsnici, ovratnica je manj primerna, saj zaradi nje pes še težje diha med fizično aktivnostjo (Trappler in Moore, 2011a; Packer in Tivers, 2015).

2.1.8.2 Kirurško zdravljenje

Za pse, pri katerih izraženi bolezenski znaki brahicefaličnega sindroma že negativno vplivajo na njihovo kakovost življenja, je metoda izbora kirurško zdravljenje. Priporoča se, da se ga opravi pravočasno, čimprej po pojavu kliničnih znakov. Po pravočasnem kirurškem zdravljenju (širjenje nosnic ter krajšanje in tanjšanje mehkega neba) imajo psi manj težav povezanih z brahicefaličnim sindromom (Dupre, 2008; Findji in Dupre, 2013; Packer in Tivers, 2015). Kirurška širitev zgornjih dihalnih poti in posledično povečan pretok zraka ugodno vplivata na ves organizem in izboljšujeta kakovost življenja psov brahicefaličnih pasem. Kirurški poseg tudi upočasni ali prepreči nastanek sekundarnih anatomskih sprememb, na primer kolaps grla in razvoj kroničnih prebavnih težav (Dupre, 2008; Packer in Tivers, 2015). Pred odločitvijo za kirurški poseg je potrebno oceniti, v kolikšni meri se bo zdravje živali izboljšalo in pri tem upoštevati morebitna tveganja (Findji in Dupre, 2013). Kirurško zdravljenje brahicefaličnega sindroma spada med posege z relativno redkim pojavom zapletov in dobrimi dolgoročnimi rezultati. Najpogostejši pooperativni zapleti so otekanje grla, bruhanje in regurgitacija, ki lahko vodi v aspiracijo vsebine in nastanek aspiracijske pljučnice. Možen zaplet je tudi dehiscenca rane. Smrtnost pri kirurškem zdravljenju brahicefaličnega sindroma je med 0 % in 3,3 %, po nekaterih podatkih pa med 0 % in 6.6 % (Trappler in Moore, 2011b; Packer in Tivers, 2015).

Obstajajo številni kirurški postopki širjenja nosnic (rinoplastika). Namen posega je povečati nosno odprtino, kar dosežemo tako, da izrežemo odvečno tkivo s področja lateralnega krila nosnic (Dupre, 2008; Trappler in Moore, 2011b). Povečan premer nosnic močno zmanjšuje upor zraka pri vdihu in omogoča večji dotok zraka v nosno votlino. Zgornji del dihalnih poti namreč predstavlja 75 % vsega upora pri vdihu. Operativni poseg je priporočen zgodaj v življenju živali, ne glede na izbiro kirurške tehnike širjenja nosnic (Trappler in Moore, 2011b; Meola, 2013; Packer in Tivers, 2015). Nekateri avtorji svetujejo korekcijo nosnic že pri starosti 3 mesecev, večina pa kot primerno starost navaja obdobje med 4 in 24 meseci (Findji in Dupre, 2013; Meola 2013). Pogosto se uporablja tehnika klinaste resekcije nosnic, pri kateri iz lateralnega krila nosnic izrežemo del tkiva, v obliki piramide oz. klina (Trappler in Moore, 2011b; Findji in Dupre, 2013).



Slika 2: Položaj psa za kirurško krajšanje mehkega neba
Figure 2: Position of dog for a soft palate resection
(Vir: Klara Škrlec)

Kirurško krajšanje mehkega neba (stafilektomija; Slika 2) je bilo opisano že leta 1920. Poznamo veliko kirurških postopkov krajšanja mehkega neba, ki se med seboj močno razlikujejo tudi po tem, katere inštrumente uporabljamo pri posegu, na primer elektroskalpel, laser, radiofrekvenčno kirurško napravo, skalpel ali napravo za bipolarno varjenje (Trappler in Moore, 2011b; Packer in Tivers, 2015). Palatoplastika z obrnjenim režnjem (FFP, angl. Folded flap palatoplasty) je kirurška tehnika, ki zajema tako krajšanje kot tudi tanjšanje mehkega neba. Pomembna prednost te tehnike je, da z njo omogočimo lažji pretok zraka v grlu, pa tudi v nosnožrelnem in ustnožrelnem področju. Preprostejša kirurška tehnika, kjer se mehko nebo samo skrajša, omogoči manjši pretok zraka kot tehnika FFP (Dupre, 2008; Findji in Dupre, 2008).

Kirurške odstranitve grlnih vrečk (sakulektomija) in tonzil (tonzilektomija) običajno ne izvedemo hkrati s širjenjem nosnic in krajšanjem mehkega neba. Izjemoma lahko posege združimo pri zelo prizadetih in starih živalih, kadar pričakujemo občutno izboljšanje dihanja po operaciji. V tem primeru je tveganje za zaplete pri odstranjevanju vrečk manjše, kot bi jo za žival predstavljala ponovna anestezija in poseg (Findji in Dupre, 2013; Packer in Tivers, 2015).

2.2 OBSTRUKTIVNA SPALNA APNEJA (OSA)

Obstruktivna spalna apneja je najpogostejša kronična motnja dihanja med spanjem pri ljudeh, za katero je značilna zelo znižana frekvenca dihanja med spanjem; pojavljajo se tudi krajša obdobja prekinitve dihanja. Oteženo dihanje med spanjem povzroča občasno hipoksemijo, hiperkapnijo, znižanje intratorakalnega tlaka in motnje spanja. Ljudje z OSA se ponoči pogosto premetavajo, znojijo, prebujajo, hlastajo za zrakom in imajo občutek dušenja. Zaradi slabše kakovosti spanca so tekom dneva pogosto utrujeni, razdražljivi, se težje osredotočijo in imajo lahko slabši spomin. Bolezen prizadene približno 10 % odrasle populacije (14 % moških in 5 % žensk), pojavi se lahko tudi pri otrocih in sicer predvsem v predšolskem obdobju. Najpogostejši dejavniki tveganja za OSA so prekomerna telesna teža, moški spol, višja starost, velik obseg vratu, anatomske nepravilnosti obraza in žrela, nevrolška obolenja in endokrinološke bolezni. Ljudje z OSA so bolj nagnjeni k avtoimunim obolenjem (Gabryelska in sod., 2018; Osman in sod., 2018; Zihlerl, 2018).

Pri ljudeh z OSA prihaja do delne ali popolne zapore žrela, največkrat jo povzročata mehko nebo in jezik. Podobno kot ljudje z OSA imajo tudi psi z izraženim brahicefaličnim sindromom močno zmanjšan premer dihalnih poti. Psi brahicefaličnih pasem so že zgodaj uporabljali kot modele za proučevanje OSA pri ljudeh. Pri angleških buldogih so v študiji proučevanja dihanja med spanjem ugotovili več sprememb, ki so značilne za ljudi z OSA. Angleški buldogi so imeli med spanjem epizode motenega dihanja z obstruktivnimi apnejami, slabšo nasičenost hemoglobina s kisikom in obstrukcijo dihalnih poti. Nenormalni dihalni vzorci so bili pogostejši med REM fazo spanja. Tudi pri ljudeh se v tem obdobju spanja pojavi poslabšanje dihalnih težav. Najverjetneje je vzrok temu zmanjšanje aktivnosti skeletnih mišic, ki so zadolžene tudi za širitev dihalne poti v področju grla in žrela. Tako se poveča upor in verjetnost kolapsa ter obstrukcije tega dela dihalne poti. Hipotonija mišic prsnega koša vodi v zmanjšanje rezidualnega volumna pljuč in dodatno negativno vpliva na ventilacijo. Pri buldogih so najverjetneje prisotne tudi dodatne spremembe v centralnem nadzorovanju dihanja, ki povzročajo centralno apnejo. Prag stimulacije respiratornega centra je dosežen pri nižji zasičenosti krvi s kisikom kot pri drugih pasmah (Hendricks in sod., 1987; Hendricks in sod., 1991; Hendricks in sod., 1993; Crane in sod., 2017).

Pri bolnikih z OSA se pogosto razvijejo bolezni krvožilnega sistema. Mehanizmi, ki pri bolnikih z OSA povzročajo nastanek bolezni krvožilnega sistema, so številni in se med seboj

prepletajo. Najizrazitejši so: stimulacija simpatičnega živčnega sistema, spremembe v regulaciji krvožilja, strukturne spremembe endotelija, oksidativni stres, arterijska hipertenzija in kronično sistemsko vnetje. Pojav bolezni krvožilnega sistema je povezan s stopnjo izraženosti OSA (von Känel in sod., 2001; Bradley in Floras, 2009; Gabryelska in sod., 2018). Zaradi podobnosti med OSA in brahicefaličnim sindromom obstaja verjetnost, da imajo omenjeni patološki procesi vpliv na krvožilje tudi pri psih z izraženim brahicefaličnim sindromom (Canola in sod., 2018).

2.3 KRONIČNI UČINKI BRAHICEFALIČNEGA SINDROMA

Zaradi motenj v pretoku zraka pri dihanju brahicefaličnih psov ne prihaja do ustrezne izmenjave plinov. Posledično v organizmu brahicefalika ostaja več ogljikovega dioksida kot je fiziološko, kar lahko vodi v respiratorno acidozo (Hendricks, 1992; Fawcett in sod., 2019, Podvršnik in Škrbec, 2019). Respiratorna acidoza je stanje, ki je posledica povišanega parcialnega tlaka ogljikovega dioksida, ki se med drugim lahko poviša zaradi zmanjšane ventilacije pljuč. Do zmanjšane ventilacije (hipoventilacije) privede obstrukcija zgornjih dihal in večanje mrtvega prostora. Organizem tako proizvede več ogljikovega dioksida kot ga lahko izloči, zato ta zastaja v telesu. Povečanje ogljikovega dioksida v organizmu vodi v rast koncentracije vodikovih ionov, ti pa znižajo pH krvi (Bruno in Valenti, 2012; Podvršnik in Škrbec, 2019). Pri psih brahicefaličnih pasem ugotavljajo znižane vrednosti arterijskega delnega tlaka kisika in nasičenosti hemoglobina s kisikom (SaO_2 - saturacija) (Hoareau in sod., 2012; Dias in sod., 2016; Arulpagasam in sod., 2018; Canola in sod., 2018). Vrednosti saturacije pri psih brahicefaličnih pasem so pogosto nižje od referenčnih vrednosti. Normalna nasičenost hemoglobina s kisikom je pri psih brahicefaličnih pasem med 93-95 % medtem ko je pri psih z normalno obliko glave (normocefalične pasme) 95 % in več (Lucero, 2006; Arulpagasam in sod. 2018). Povprečne vrednosti delnega tlaka kisika v arterijski krvi so pri brahicefalikih $86,2 \pm 15,9$ mmHg, pri mezo- in mezocefaliki pa $100,2 \pm 12,6$ mmHg; $P < 0,05$ (Hoareau in sod., 2012).

Za pse brahicefaličnih pasem so v primerjavi z mezocefaličnimi pasmami značilne višje vrednosti hematokrita (Hoareau in sod., 2012; Crane in sod., 2017) in povišane vrednosti oscilometrično merjenega srednjega krvnega tlaka. Povišane vrednosti hemoglobina in hematokrita so verjetno kompenzacijski mehanizem za vzdrževanje zadostne količine kisika v

arterijski krvi, kljub nižjemu delnemu tlaku kisika (Hoareau in sod., 2012). Zaradi težav z dihanjem, ki so posledica anatomskih deformacij zgornjih dihal psov teh pasem, torej pride do pomanjkanja kisika v krvi (pomanjkljive nasičenosti hemoglobina s kisikom, nizek delni tlak kisika in posledično pomanjkljive oskrbe telesa s kisikom), kar pa je močan stimulus za proizvodnjo eritrocitov v kostnem mozgu.

2.3.1 Hipomagneziemija

Pri psih brahicefaličnih pasem je pogosto tudi pomanjkanje magnezija oz. stanje hipomagneziemije. Ker sta tako spalna apneja kot hipertenzija prisotni pri buldogih, se predpostavlja, da obstaja povezava med stanjem hipomagneziemije, hipertenzije ter spalno apnejo. Stanje hipomagneziemije, pomanjkanje znotrajceličnega magnezija, je pomemben dejavnik, ki privede do sistemske hipertenzije in poslabšanja stanja psov, ki trpijo za brahicefaličnim sindromom (Mellema in Hoareau, 2014b).

2.3.2 Kronično vnetje

Tako brahicefalični sindrom kot obstruktivna spalna apneja sta povezana z razvojem kroničnega vnetja nizke stopnje. Pogosta hipoksija in reoksigenacija sta najverjetneje glavna dejavnika, ki vpivata na razvoj kroničnega vnetnega stanja pri obeh sindromih (Toraldio in sod., 2016; Crane in sod., 2017; Gabryelska in sod., 2018; Osman in sod., 2018). Tudi debelost, ki je pogosta pri psih z izraženim brahicefaličnim sindromom, je definirana kot stanje blagega kroničnega vnetja. Številni psi z izraženim brahicefaličnim sindromom imajo v krvni plazmi povišano koncentracijo tako provnetnih, kot protivnetnih citokinov (Rancan in sod., 2013). V nasprotju s koncentracijo omenjenih citokinov pa pri psih brahicefaličnih pasem niso ugotovili povišane koncentracije pokazateljev akutne faze vnetja, to je C-reaktivnega proteina in haptoglobina (Planellas in sod., 2012; Planellas in sod., 2015).

2.4 HEMOSTAZA IN NJENI PARAMETRI

Hemostaza (gr. haimatos = kri, statos = stoječ) je kompleksen in dovršen proces, sestavljen iz številnih fizioloških mehanizmov, ki omogočajo učinkovito ustavljanje krvi po poškodbi žile. Hemostaza omogoča preoblikovanje krvi iz tekočega stanja v lokaliziran strdek na mestu poškodovane žile. V zapletenem in usklajenem procesu sodelujejo štiri ključne komponente: trombociti, žilna stena, strjevanje krvi (koagulacija) in fibrinoliza (Smith, 2010; Austin, 2013). V nepoškodovanih žilah hemostaza vzdržuje kri v tekočem stanju, ob poškodbi žile pa prepreči večjo krvavitev (Stegnar, 2005).

Proces hemostaze lahko glede na prevladujoče elemente razdelimo na primarno in sekundarno hemostazo. Primarno hemostazo opisujemo kot žilno in trombocitno obdobje. Sekundarna hemostaza pa predstavlja obdobje strjevanja krvi, fibrinolize ter nastanka rdečega oziroma dokončnega tromba (Arnout in sod., 2006).

2.4.1 Žilno-trombocitno obdobje - primarna hemostaza

Primarna hemostaza se začne s krčenjem žilne stene (vazokonstrikcijo), adhezijo trombocitov na subendotel in nastankom trombocitnega čepa. Ta faza torej zajema začetne procese zapiranja poškodovanih krvnih žil, ki vodijo v nastanek manj stabilnega primarnega trombocitnega čepa. Pri tem je pomembno ustrezno število trombocitov ter sodelovanje med njimi in steno krvne žile (Mischke, 2012a; Backer, 2012; Austin, 2013).

Takoj po poškodbi žile se te skrčijo. Pri mehanizmu krčenja poškodovanih krvnih žil sodelujejo gladke mišične celice, ki se refleksno skrčijo, in endotelij žilne stene, katerega celice izločajo vazoaktivne snovi. Krčenje krvne žile začasno zmanjša ali celo prekine lokalni pretok krvi in tako pripomore k nastanku trombocitnega čepa (Backer, 2012; Mischke, 2012a). Na mestu poškodbe krvne žile pride do stika trombocitov z izpostavljenim subepiteltnim tkivom, kar povzroči aktivacijo trombocitov in začetek tvorbe trombocitnega čepa. Trombociti se pripenjajo na subendotelni kolagen preko specifičnih membranskih receptorjev. Vezava na subendotelno tkivo povzroči spremembo oblike trombocitov, ki postanejo bolj okrogli. Trombociti pridobijo tudi številne površinske izrastke (pseudopodije), ki močno povečajo njihovo površino. Aktivacija trombocitov vodi v izražanje membranskih receptorjev za fibrinogen in von

Willebrandov faktor, ki omogočita dodatno agregacijo trombocitov. V okolico se izloča tudi vsebina trombocitnih granul (adenozindifosfat, adenozintrifosfat, kalcij, rastni faktori, vezavne beljakovine...) in privablja na mesto poškodbe dodatne trombocite. Membrane naloženih trombocitov se nato razgradijo, kar omogoči združitev celic v trombocitni čep (Smith, 2010; Mischke, 2012a; Austin, 2013).

2.4.1.1 Trombociti

Trombociti so fragmenti citoplazme, ki nastanejo iz megakariocitov. Večina trombocitov nastane v kostnem mozgu, pomemben izvorni organ so tudi pljuča in vranica (Backer, 2012). Po sprostitvi v krvni obtok imajo pasji trombociti povprečno življenjsko dobo 5-7 dni (Tanaka in sod., 2002). Trombociti so lahko sferični, ovalni ali paličasti. Krožeči trombociti so diskaste oblike, zato jim pravijo tudi celične ploščice. Imajo številne citoplazemske organele, nimajo pa celičnega jedra. Na krvnem razmazu je njihova citoplazma slabo omejena ter modre barve. V citoplazmi so vidne tudi rdečkaste granule. Za učinkovito primarno hemostazo je potrebno normalno število trombocitov (Stegnar, 2005; Martinčič, 2012).

Trombociti imajo v procesu hemostaze osrednjo vlogo (Mischke, 2012a). Trombociti so glavni povezovalni člen med sistemskim vnetjem ter razvojem kardiovaskularnih bolezni pri ljudeh z OSA, saj je motena njihova funkcija v procesu strjevanja krvi in pri modulaciji vnetnih procesov (Gabryelska in sod., 2018). Številčna koncentracija trombocitov in njihove konstante so lahko pomembni markerji za prepoznavanje kardiovaskularnih odstopanj. Ob aktivaciji trombocitov se spremeni njihova značilna diskoidna oblika, saj se na račun podaljškov poveča njihova površina. Tako se poveča povprečna prostornina trombocitov v krvnem obtoku (MPV, angl. Mean Platelet Volume), ki odraža aktivnost teh celic. Ugotovljeno je bilo, da se MPV bolj poveča pri močneje izraženi OSA in pri sočasnem pojavu kardiovaskularnih težav. Vendar je kliničen pomen MPV kot pokazatelja sistemskega vnetja, aktivacije trombocitov in tromboemboličnih stanj še vedno vprašljiv (Backer, 2012; Gabryelska in sod., 2018).

2.4.1.2 Trombocitoza

Trombocitoza pomeni povečanje števila trombocitov v perifernem krvnem obtoku nad zgornjo mejo referenčne vrednosti. Trombocitoza je lahko primarna ali sekundarna in jo pogosto najdemo naključno pri izvedbi krvnih preiskav. Primarna trombocitoza je mieloproliferativna bolezen in je posledica povečane produkcije trombocitov v kostnem mozgu. Poleg povečanega števila trombocitov v krvnem obtoku, je za primarno trombocitozo značilna hiperplazija megakariocitov v kostnem mozgu. Mehanizmi, ki sodelujejo pri nastanku primarne trombocitoze pri živalih, še niso povsem pojasnjeni. Primarna trombocitoza je pri psih mnogo redkejša od sekundarne (Stokol, 2010; Woolcock in sod., 2017; Phipps in sod., 2020).

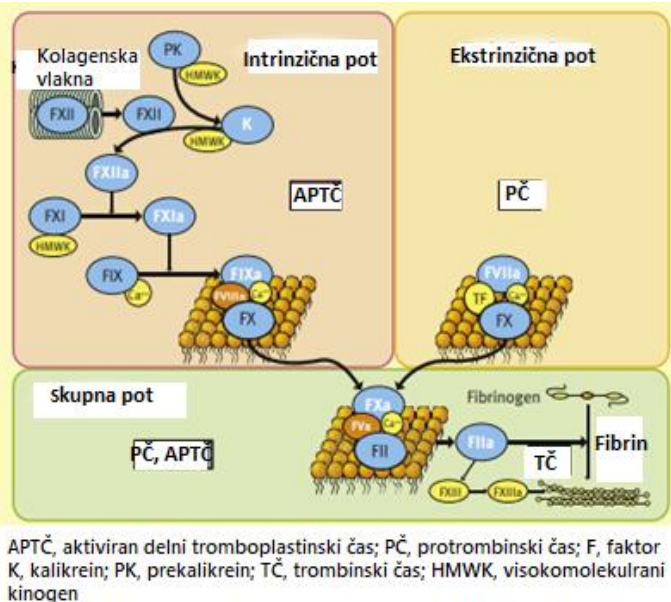
Sekundarna ali reaktivna trombocitoza se pojavlja pogosteje. Nastane kot odgovor na primarni patološki proces in je posledica vpliva citokinov na proces trombopoeze. Je napogostejša oblika trombocitoze pri ljudeh in živalih. Reaktivno trombocitozo pri psih pogosto povzročajo neoplazije (karcinomi in limfomi) in vnetni procesi (imunski procesi, gastrointestinalna in hepatobiliarna vnetja). Trombocitozo lahko povzročajo tudi endokrine bolezni (hipertireoidizem, hiperadrenokorticism), pomanjkanje železa, hemoliza, akutne krvavitve in zdravila (vinkristin, adrenalin). Trombocitoza se pojavi tudi po kirurški odstranitvi vranice (splenektomija) (Stokol, 2010; Woolcock in sod., 2017). V študiji psov, ki so jim opravili splenektomijo, so ugotovili povezavo med pooperativno trombocitozo in povišanimi parametri tromboelastografije, ki lahko kažejo na stanje pospešenega strjevanja krvi (Phipps in sod., 2020). Uporabljena metoda tromboelastografije sodi med sodobne koagulacijske preiskave s katerimi zajamemo celoten proces strjevanja krvi, to je: aktivacijo trombocitov, koagulacijo in fibrinolizo. Te metode temeljijo na: merjenju nastanka in razgradnji strdka, merjenju tvorjenja trombina in merjenju elastičnosti tromba (Stegnar, 2005; Lance, 2015; Phipps in sod., 2020).

2.4.2 Koagulacija krvi - sekundarna hemostaza

Sekundarna hemostaza je proces, ki z nastankom fibrinskega čepa zagotovi učvrstitev zapore na mestu poškodbe žile. Končni produkt kaskade je trombin, ki pretvori fibrinogen v fibrin in tako učvrsti zaporo. Po zacelitvi sledi fibrinoliza, ki omogoči razgradnjo fibrinskega čepa ter

tako omogoči ponoven pretok krvi. Proces strjevanja krvi se začne hkrati s primarno hemostazo, vendar celoten proces za njo nekoliko zaostaja (Smith, 2010; Šuput, 2014).

Proces koagulacije krvi (Slika 3) je zelo zapleten biokemični proces, pri katerem sodelujejo trombocitni in plazemski faktorji koagulacije krvi, njihovi kofaktorji, kalcijevi ioni in tkivni tromboplastin. Med trombocitne faktorje koagulacije uvrščamo tiste, ki pomembno sodelujejo v fazi koagulacije: trombocitni faktor 1, trombocitni faktor 2, trombocitni faktor 3, trombostenin in antiheparinski faktor. Plazemski koagulacijski faktorji so glikoproteini. V krvnem obtoku so prisotni v različnih, a majhnih, koncentracijah. Največ je fibrinogena, saj služi kot gradivo za strdek. Označujemo jih z rimskimi številkami od I do XIV (Bohinjec, 1983; Austin, 2013). Večina faktorjev koagulacije so serinske proteinaze, ki se sintetizirajo v jetrih (faktorji II, VII, IX, X, XI, XII ter proteina C in S), nekateri tudi v makrofagih, megakariocitih, trombocitih in endotelnih celicah. V krvnem obtoku so prisotni kot proencimi, ki se v procesu koagulacije pretvorijo v aktivno encimsko obliko. Aktivacija faktorjev koagulacije poteka v točno določenem zaporedju – kaskadni ali verižni sistem aktivacije koagulacijskih faktorjev (Smith, 2010; Mischke, 2012a; Šuput, 2014).



Slika 3: Proces koagulacije krvi (povzeto po Austin, 2013)
Figure 3: Coagulation pathway (adopted from Austin, 2013)

Faktorji II, VII, IX, X in proteina C ter S ne morejo uspešno vstopiti v proces koagulacije, brez sodelovanja vitamina K. Ta deluje kot kofaktor in omogoči karboksilacijo faktorjev, ki je potrebna za učinkovito delovanje kalcijevih ionov ter posledično vezavo na negativno nabite fosfolipide in tvorbo kompleksov med posameznimi elementi koagulacije. Večina encimskih procesov zaporedja koagulacije poteka na fosfolipidni membrani aktiviranih trombocitov. Trombociti delujejo torej kot pospeševalci procesov koagulacije, saj izločajo iz svojih zrnč tudi aktivne snovi (Smith, 2010; Mischke, 2012a; Backer, 2012).

Potek koagulacije lahko razdelimo na intrinzično in ekstrinzično ter skupno pot (Slika 3). Takšna shematska razdelitev temelji na različnih poteh aktivacije kaskadnega procesa, čeprav obe poti potekata sočasno. Obe poti se končata s pretvorbo protrombina v trombin. Slednji je aktivni encim, ki odcepi fibrinopeptid A in B od molekule fibrinogena. Preostali del je monomer fibrina, ki polimerizira v netopni fibrin kot končni produkt strjevanja krvi (Arnout in sod., 2006; Šuput, 2014)

Ekstrinzična pot (Slika 3) poteka hitreje in enostavneje od intrinzične. Ob poškodbi tkiva pride do sproščanja tkivnega faktorja (TF) (transmembranski glikoprotein), ki se veže na aktivni faktor VII (FVIIa). Ta kompleks (TF-FVIIa) s pomočjo kalcijevih ionov aktivira faktor X in tudi IX. Od tu poteka skupna pot koagulacije. Obe poti se med seboj dopolnjujeta (Backer, 2012; Šuput, 2014).

Intrinzična pot (Slika 3) je del koagulacijske poti, ki jo aktivira dotik krvi s hrapavo površino, ki ima negativni električni naboj. V telesu se to zgodi ob stiku krvi z izpostavljenim podepitelnim kolagenom, trombocitnimi polisomi, agregati proteinov ter tkivno ribonukleinsko kislino (RNA). Dotik s hrapavo površino aktivira faktor XII (Kontaktni ali Hagemanov faktor) tako, da razgali del njegove strukture. Pri tem sodelujeta tudi visokomolekularni kininogen in prekalikrein. Po principu pozitivne povratne zveze omogoči aktiviran FXII pretvorbo prekalikreina v aktivni protelolitični encim kalikrein. Tako se aktivira še večje število molekul FXII. Aktiviran faktor XII nato omogoči aktivacijo naslednjega faktorja v kaskadi. To je faktor XI. Za aktivacijo slednjega pa je odgovoren tudi trombin. Faktor XIa nato ob prisotnosti fosfolipidov in kalcijevih ionov od faktorja IX odcepi del polipeptidne verige in ga na ta način aktivira. Kompleks aktiviranih faktorjev IX in VIII ter kalcijevih ionov nato na fosfolipidih cepi faktor X v Xa. Proces koagulacije se nato nadaljuje po skupni poti (Arnout in sod., 2006; Smith, 2010; Šuput, 2014).

Skupna pot (Slika 3):

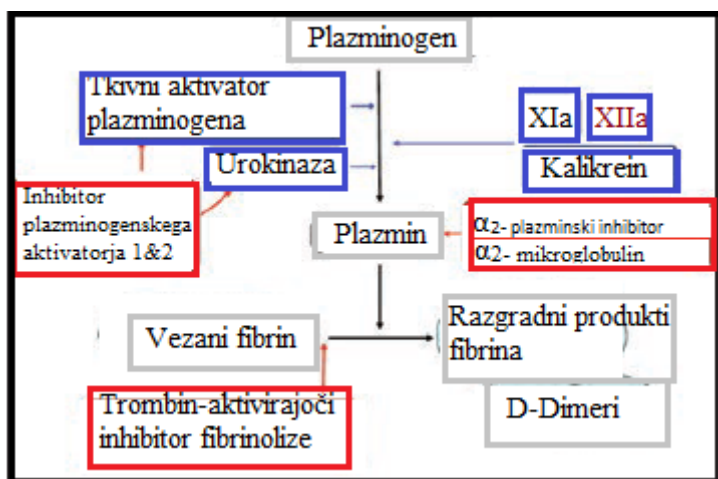
Protrombinazni kompleks sestavljajo aktivirana faktorja V in X, kalcijevi ioni ter fosfolipid. Kompleks omogoči proteolizo protrombina (faktor II) in nastanek trombina. Trombin je proteaza, ki omogoča aktivacijo številnih faktorjev (V, VIII, XI, in XIII) in močno vpliva na proces koagulacije. Za ustavitev krvavitve pa je ključna aktivacija fibrinogena (faktorja I) v fibrin. Fibrinogen je velik protein sestavljen iz dveh identičnih in zrcalno simetričnih podenot. Vsaka podenota je sestavljena iz treh polipeptidnih verig, ki se ovijajo druga okoli druge ter tvorijo linearno molekulo. Trombin se veže na fibrinogen in odcepi negativno nabite fibrinopeptide A in B. Tako se tvorijo fibrinski monomeri, ki se z vodikovimi vezmi povežejo v polimere. Z odcepitvijo fibrinopeptidov je omogočena polimerizacija po dolžini in širini. Trombin aktivira tudi faktor XIII, ki je transglutaminaza. Ta katalizira nastanek amidnih vezi med molekulami fibrina, ki učvrstijo fibrinski strdek in ga naredijo odpornejšega na proces fibrinolize. Fibrinska struktura je torej odvisna od količine in hitrosti tvorbe trombina. Le zadostna tvorba teh proteaz omogoči nastanek stabilnega čepa, ki omogoči zadostno hemostazo (Mischke, 2012a; Austin, 2013; Šuput, 2014).

2.4.3 Fibrinoliza

Za uspešno zaključitev hemostaze je potrebna obnova poškodovane žilne stene in odstranitev fibrinskega strdka (Slika 4). Fibrinoliza je pomemben fiziološki mehanizem, ki pomaga pri ponovni vzpostavitvi prehodnosti žil, ker omejuje širjenje fibrinskih strdkov in jih razgrajuje. Tako se lahko ponovno vzpostavi normalen pretok krvi (Arnout in sod., 2006; Mischke, 2012a). Fibrinolitični sistem se aktivira sočasno s koagulacijo (Šuput, 2014).

Fibrinolitično razgradnjo strdka omogoča proteolitični encim plazmin. Ta nastane iz proencima plazminogena, ki ga po sprostitvi iz endotelijskih celic aktivira tkivni aktivator plazminogena (t-PA). Plazmin razgrajuje fibrin, fibrinogen ter faktorja V in VIII. V fizioloških pogojih je pomembna le razgradnja fibrina. Plazmin je nespecifičen encim in razgrajuje snovi na enak način, nekoliko se razlikujejo le končni produkti razgradnje. Razgradne produkte odstranjujejo celice retikuloendotelnega sistema. Eden izmed razgradnih produktov je tudi D-dimer, katerega določanje lahko uporabimo v diagnostične namene. Delovanje plazmina je omejeno na mesto

poškodbe, kjer prepreči pretirano strjevanje krvi. Za regulacijo fibrinolize so potrebni številni zaviralci. Najpomembnejši je antiplazmin, ki se veže na plazmin, poleg tega pa prepreči vezavo plazminogena na fibrinogen. V krvnem obtoku plazmin hitro inaktivirajo plazminski inhibitorji. Tako je uravnana in preprečena pretirana razgradnja faktorjev strjevanja krvi (Arnout in sod., 2006; Smith, 2010; Austin, 2013).



Slika 4: Fibrinoliza (povzeto po Mischke, 2012a)
Figure 4: Fibrinolysis (adopted from Mischke, 2012a)

Motnje hemostaze privedejo do krvavitev zaradi počasnega strjevanja krvi, kar imenujemo hipokoagulabilnost, ali do nastanka strdkov v žilah zaradi pospešenega strjevanja krvi, kar imenujemo hiperkoagulabilnost (Stegnar, 2005; Singh in sod., 2018).

2.4.4 Hiperkoagulabilnost

Hiperkoagulabilnost ali pospešeno strjevanje krvi je motnja v sistemu koagulacije krvi pri kateri je povečana aktivnost prokoagulantov ali zmanjšanja aktivnost antikoagulantov (Song in sod., 2016). Pospešeno strjevanje krvi povečuje verjetnost nastanka krvnih strdkov, zato so prizadete živali bolj nagnjene k razvoju pljučne tromboze ter arterijske in venske sistemske tromboze (Kittrell in Berkitt, 2012; Blois, 2017). Pospešeno strjevanje krvi je del tako imenovane Virchowe triade, s katero je Rudolph Virchow opisal potek tromboze. Glavne spremembe, ki povzročajo pospešeno strjevanje krvi, so povečana agregacija trombocitov, pretirana aktivacija faktorjev koagulacije ali zmanjšano odstranjevanje teh, spremembe v

delovanju antikoagulantov ter motnje v procesu fibrinolize (Prosciak, 2008; Kittrell in Berkwitt, 2012; Phipps, 2020).

Pospešeno strjevanje krvi se lahko razvije pri različnih bolezenskih stanjih, ki vplivajo na krvožilni sistem. Pri psih so s klinično zaznavno hiperkoagulabilnostjo povezani imunsko povzročena hemolitična anemija, nefropatija in enteropatija z izgubo proteinov, infektivni endokarditis, okužba s srčno glisto, endokrinopatije, sepsa in kronična sistemska vnetna stanja ter nekatere neoplastične spremembe (Blois, 2017). Mehanizmi razvoja pospešenega strjevanja krvi so pri teh bolezenskih stanjih raznoliki, zapleteni in slabo poznani. Ugotavljanje morebitnih trombov je zaradi raznolikih kliničnih znakov zapleteno (Kittrell in Berkwitt, 2012; Song in sod., 2016).

Pri ljudeh z OSA pogosto ugotavljajo spremembe v procesu strjevanja krvi. Študije že več kot 20 let opisujejo povezave med OSA in pospešenim strjevanjem krvi (Torald in sod., 2016; Hong in sod., 2017; Gabryelska in sod., 2018). Kot že omenjeno, je potek patoloških procesov pri ljudeh z OSA in psih z brahicefaličnim sindromom zelo podoben. Ugotovitve iz humanih študij lahko zato uporabimo tudi pri proučevanju sprememb strjevanja krvi pri psih z brahicefaličnim sindromom (Crane in sod., 2017). Razvoj pospešenega strjevanja krvi pri OSA je zelo kompleksen, saj nanj vpliva veliko dejavnikov (Terada in sod., 2011; Torald in sod., 2016).

Številni avtorji so pri ljudeh z OSA ugotovili povečano aktivnost trombocitov ter zmanjšano fibrinolitično aktivnost koagulacijskega sistema (von Känel in sod., 2001; Torald in sod., 2016). Spremembe niso uniformne, saj so pri ljudeh z OSA našteti parametri lahko znotraj postavljenih referenčnih vrednosti (von Känel in sod., 2001). Tako pri ljudeh, kot tudi pri živalih je bila ugotovljena povezava med intermitentno hipoksijo ter povečanjem aktivnosti simpatičnega živčnega sistema. Slednji vpliva na povišanje koncentracije PAI-1 (inhibitor plazminogeneskega aktivatorja 1) in zmanjšanje fibrinolitične aktivnosti (Torald in sod., 2016; Gabryelska in sod., 2018). Pri ljudeh z OSA je bila ugotovljena povezava med visoko stopnjo hipoksije in povečanim deležem aktiviranih trombocitov v krvi. Hipoksija lahko neposredno vpliva na delovanje trombocitov, saj povečuje njihovo reaktivnost ter izražanje proteinov vključenih v proces koagulacije. Hipoksija vpliva tudi na endotelne celice ožilja, ki izločajo višje koncentracije tkivnega faktorja, medtem ko se zniža njihova proizvodnja trombomodulina. Slednji deluje kot kofaktor pri aktivaciji proteina C in tako sodeluje v kaskadi antikoagulacije

(von Känel in sod., 2001; Toraldo in sod., 2016; Gabryelska in sod., 2018). Aktivnost trombocitov lahko povečujejo tudi številni vnetni mediatorji, ki so pri ljudeh z OSA prisotni v povišani koncentraciji (Toraldo in sod., 2016; Crane in sod. 2017; Gabryelska in sod., 2018).

Klinične študije kažejo, da je pospešeno strjevanje krvi eden izmed pomembnih dejavnikov, ki močno pripomorejo k razvoju bolezni krvožilnega sistema pri bolnikih z OSA. Pospešeno strjevanje krvi je povezano s pogostejšim razvojem arterijske hipertenzije, infarkta miokarda, bolezni koronarnih arterij ter drugih kardiovaskularnih težav (von Känel in sod., 2001; Bradley in Floras, 2009; Gabryelska in sod., 2018).

Na manjšem vzorcu psov z brahicefaličnim sindromom (Crane in sod., 2017) in pri klinično zdravih buldogih (Hoareau in Mellema, 2015) so z metodo tromboelastografije ugotovili spremembe, ki kažejo na prisotnost aktiviranih trombocitov in na stanje pospešenega strjevanja krvi.

2.5 IZBRANE KOAGULACIJSKE PREISKAVE

Motnje hemostaze največkrat povzročajo spremembe v številu in aktivnosti trombocitov ter spremembe v sistemu koagulacije. Za določitev motenj hemostaze, ki izvirajo iz žilne stene, v veterinarski medicini ni standardiziranih testov (Mischke, 2012b). Natančna anamneza in klinični pregled živali sta zelo pomembna pri diagnostiki motenj hemostaze. Za končno potrditev diagnoze so potrebne nadaljnje laboratorijske analize krvi. Preiskavo osnovnega profila hemostaze (številčna koncentracija trombocitov, PČ, APTČ in trombinski čas) lahko opravijo tudi manjši klinični laboratoriji. To omogoča kliniku hitro oceno delovanja hemostatskega sistema in nadaljnje vodenje pacienta. V kolikor na podlagi pridobljenih rezultatov ni mogoče postaviti diagnoze, se lahko klinik bolj usmerjeno odloči za nadaljnje bolj specifične analize krvi. To so na primer določanje koncentracije fibrinogena, antitrombina, D-dimerov, aktivacijskih faktorjev, von Willebrandov-ega faktorja ter analize aktivnosti trombocitov (Backer, 2012; Mischke, 2012b).

S testi sekundarne koagulacije ugotavljamo motnje v intrinzični, ekstrinzični in skupni poti koagulacije (Šuput, 2014).

2.5.1 Protrombinski čas (PČ)

S tem testom ugotavljamo motnje v delovanju faktorjev ekstrinzične in skupne poti koagulacije: I, II, V, X in VII (Smith, 2010; Mischke, 2012b). Le podaljšani protrombinski čas je pokazatelj sprememb v koagulacijskem sistemu. Nikoli ne smemo vrednotiti koagulacije zgolj na podlagi PČ, temveč moramo poleg PČ določiti tudi APTČ. Določanje PČ je pomembno za prepoznavanje prirojenih in pridobljenih motenj ekstrinzične poti koagulacije ter jetrnih bolezni. Z določanjem PČ merimo aktivnost faktorjev, ki so odvisni od vitamina K (II, VII, X). Zato je poznavanje PČ uporabno pri spremljanju učinkovitosti terapije pri zastrupitvi z antagonisti vitamina K, npr. z rodenticidi (Stegnar, 2005; Šuput, 2014; Hemostasis, 2020). Najpogosteje test opravimo tako, da plazmi dodamo tkivni faktor, ki deluje kot aktivator (tromboplastinski reagent – mešanica tromboplastina in kalcijevih ionov). Nato izmerimo čas nastanka fibrinskega strdka. Pri psih in mačkah je normalen protrombinski čas kratek, po navadi je krajši od 10 sekund (Hemostasis, 2020). Hitro koaguliranje živalske plazme zmanjšuje občutljivost preiskave. Zato nekateri laboratoriji redčijo komercialne reagente, da podaljšajo čas koagulacije in povečajo občutljivost zaznave sprememb faktorjev koagulacije. Viri tkivnega faktorja se razlikujejo in lahko vplivajo na rezultate preiskave. Zato moramo PČ vedno vrednotiti glede na referenčne vrednosti postavljene za specifično vrsto reagenta in koagulacijski analizator (Smith, 2010; Šuput, 2014; Hemostasis, 2020).

2.5.2 Aktivirani delni tromboplastinski čas (APTČ)

S tem testom odkrivamo motnje intrinzične in skupne poti koagulacije. Preiskava se imenuje aktivirani delni tromboplastinski čas zaradi dodanega površinskega aktivatorja in parcialnega tromboplastina, ki vsebuje fosfolipide, ne pa tkivnega faktorja. Normalen APTČ pri psih znaša 15 do 20 sekund in je znatno krajši kot pri ljudeh (Hemostasis, 2020). Vzrok podaljšanja APTČ je sprememba delovanja enega izmed faktorjev intrinzične poti (XII, XI, IX in VIII) in skupne poti (X, V, II in fibrinogen). Znižanje prekalikreina in visokomolekularnega kininogena prav tako povzroči podaljšanje APTČ. Aktivnost posameznih faktorjev mora biti močno zmanjšana (< 30 % običajne aktivnosti), da se APTČ podaljša. Lahko pa manjše motnje pri več koagulacijskih faktorjih skupne ali intrinzične poti povzročijo podaljšanje APTČ. Pri ljudeh je okoli 95 % prirojenih motenj koagulacijskih faktorjev povezanih s podaljšanjem APTČ. Določanje APTČ je uporabno pri ugotavljanju hemofilije A (pomanjkanje FVIII) in B

(pomanjkanje FIX) ter von Willebrandove bolezni (Stegnar, 2005; Margaritis in sod., 2009; Smith, 2010; Hemostasis, 2020).

Test opravimo tako, da citrirano plazmo inkubiramo z optimalno količino fosfolipidov, kot sta na primer kefalin in kaolin, ki deluje kot površinski aktivator. Po ustreznem času (odvisno od proizvajalca reagentov) dodamo še kalcijeve ione in izmerimo čas nastanka fibrinskega strdka. Tako kot pri določanju PČ tudi na meritve APTČ vpliva izbira reagenta in koagulacijskega analizatorja, kar pomeni, da je za vrednotenje APTČ pri pacientu potrebno upoštevati referenčne vrednosti postavljene s specifičnimi reagenti in koagulacijskimi analizatorji (Smith, 2010; Hemostasis, 2020).

2.5.3 D-dimeri

D-dimeri so končni, najmanjši razgradni produkti, ki nastanejo ob delovanju plazmina na premreženi fibrin. So torej specifični za razgradnjo fibrina. Povišana vrednost D-dimerov je tako pokazatelj prisotnosti trombina, ki deluje na fibrinogen, ta pa se pretvarja v fibrinske monomere, ki se prepletajo med seboj. Povišano koncentracijo D-dimerov lahko povzroči prisotnost plazmina, ki lizira fibrin. Povišana koncentracija D-dimerov je znak, da je prišlo do nastajanja fibrina in do sekundarnega aktiviranja fibrinolize. Test je specifičen za odkrivanje diseminirane intravaskularne koagulacije (DIK; angl. DIC, Disseminated intravascular coagulation). Koncentracija D-dimerov je lahko povišana tudi pri pljučni tromboemboliji in venski trombozi (Stokol, 2000).

Koncentracijo D-dimerov v plazmi določamo z različnimi imunskimi metodami. Danes v kliničnih laboratorijih najpogosteje uporabljajo aglutinacijsko metodo z delci lateksa, ELISA metodo in imunoturbidimetrično metodo (Ucman, 2008; Giannouloupoulos in sod., 2010). Metode, ki se uporabljajo v humani medicini, lahko uspešno uporabljamo tudi za določanje koncentracije D-dimerov pri psih (Caldin in sod., 2000; Dewhurst in sod., 2008; Giannouloupoulos in sod., 2010).

2.5.4 Odstopanja vrednosti koagulacijskih časov, PČ in APTČ

Podaljšan PČ, normalen APTČ: je posledica pomanjkanja normalne aktivnosti faktorja VII. Normalen APTČ pomeni, da ni motenj delovanja faktorjev intrinzične in skupine poti koagulacije. Vzroki takšnega stanja so lahko zgodnja faza pomanjkanja vitamina K, DIK, hepatopatije in motena sinteza faktorja VII, prirojene motnje faktorja VII, terapija z varfarinom (iatrogeno). Podaljšan PČ je lahko tudi artefakt oziroma posledica neustreznega odvzema krvi (otežena venepunkcija, premajhen volumen odvzete krvi, pretirana razredčitev vzorca) (Smith, 2010; Mischke, 2012b; Hemostasis, 2020).

Podaljšan APTČ, normalen PČ: je posledica neustreznega delovanja faktorjev intrinzične poti (VIII, IX, XI, XII) ali kontaktnih faktorjev (prekalikrein). Normalen PČ pomeni, da ni motenj v delovanju faktorja VII (ekstrinzična pot). Aktiviran delni protrombinski čas je precej občutljiv na *in vitro* aktivacijo koagulacijskih faktorjev in je zato lahko podaljšan pri oteženem jemanju krvi. Podaljšan je tudi pri neustreznem volumnu krvi, ki ga odvezemo v epruveto z antikoagulantom natrijevim citratom ter vzorec tako pretirano razredčimo. APTČ podaljša tudi terapija s heparinom, prirojene motnje intrinzičnih in kontaktnih faktorjev, DIK ter hepatopatije (Smith, 2010; Mischke, 2012b; Hemostasis, 2020).

Podaljšan APTČ, podaljšan PČ: je lahko posledica pomanjkanja faktorja VII, faktorjev intrinzične poti (IX, X, XI, XII) ali faktorjev skupne poti (I, II, V, X). Pomanjkanje faktorjev je lahko posledica številnih vzrokov, kot so na primer DIK, prirojene motnje faktorja X, hepatopatije, pomanjkanje in antagonizem vitamina K ter terapija z varfarinom (Smith, 2010; Mischke, 2012b; Hemostasis, 2020).

.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 IZBIRA PACIENTOV IN RAZVRŠČANJE V KATEGORIJE

Klinična študija Prešernove naloge je potekala od 27. 12. 2017 do 10. 03. 2020 na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete v Ljubljani. V raziskavo smo sprejeli 112 lastniških psov, 12 psov smo kasneje zaradi zdravstvenih težav, ki niso bile neposredno povezane z brahicefaličnim sindromom izključili iz študije. V raziskavo smo tako vključili 100 psov, od tega 47 francoskih buldogov, 16 bostonskih terierjev, 19 mopsov, 2 angleška buldoga, 6 ši-cujev, 1 jorkširskega terierja, 1 ameriškega buldoga ter 8 psov mezocefaličnih mešancev pasem. Pri 74 psih brahicefaličnih pasem smo potrdili prisotnost brahicefaličnega sindroma. 18 psov brahicefaličnih pasem ni imelo izraženih značilnih znakov za brahicefalični sindrom. Kot kontrolno skupino smo uporabili 8 psov mezocefaličnih mešancev. V raziskavo smo vključili 48 samic in 52 samcev.

Lastniki psov so bili pred vključitvijo v raziskavo seznanjeni z njenim namenom in potekom, podpisali so soglasje o privolitvi k sodelovanju. Postopki raziskave so potekali v skladu z veljavno slovensko zakonodajo na področju veterinarstva (Zakon o zaščiti živali UL RS 43/2007).

Na podlagi odvzete anamneze, kliničnega pregleda in analize krvnih parametrov, smo pse brahicefaličnih pasem razvrstili v kategorije. Pse brahicefaličnih pasem, ki niso imeli kliničnih znakov brahicefaličnega sindroma, smo vključili v posebno skupino ('zdravi brahicefaliki'). Pse pri katerih smo potrdili prisotnost brahicefaličnega sindroma, smo glede na stopnjo izraženih težav in anatomskih sprememb razvrstili v tri kategorije (kategorije 1-3). Pri razvrstitvi v kategorije, smo si pomagali tudi z endoskopskim pregledom zgornjih dihal, ki smo ga opravili pred operativnim posegom. Najprej smo pregledali stopnjo zoženosti oziroma prehodnosti nosnic. Nato smo v anesteziji pregledali mehko nebo, grlo, sapnik in nosni del žrela (nazofarinks). Pri mehkem nebu smo ocenili ali je predebelo in/ali predolgo. V grlu smo pregledali tonzile in ocenili, če so povečane in ali ležijo izven kript. Opazovali smo tudi grlne hrustance, ki se v izrazitejših primerih brahicefaličnega sindroma lahko povsem dotikajo in prekrivajo, pozorni smo bili, če je sluznica grla edematozna in

eritematozna. Nato smo ocenili prisotnost kolapsa grla ter njegovo stopnjo (1-3). Zadnja struktura, ki smo jo pregledali v grlu, so bile grlne vrečke. Glede na njihovo izraženost oziroma izvihanje, smo jih uvrstili v stopnje 1-3. Sledila je ocena sesedanja sapnika ter ocena prisotnosti sluzi. Pri nosnem delu žrela smo pogledali, če je zoženo, če so izražene slinske žleze ter ali so mehka tkiva edematozna in nagubana. Pregledali smo tudi konhe, ki so lahko deformirane (aberirane). Ocenili smo tudi debelino baze jezika in njegovo dolžino. Preverili smo zmožnost odpiranja ustne votline, saj je pri nekaterih psih brahicefaličnih pasem močno omejena.

3.2 ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV KRVİ

Psom z brahicefaličnim sindromom smo vzorce krvi odvzeli dvakrat, 2 uri pred opravljenim kirurškim posegom (dan vključitve v raziskavo) in 1 mesec po opravljenem posegu, ko so bili psi naročeni na kontrolni pregled. Pri asimptomatskih, zdravih brahicefalikih in psih v kontrolni skupini smo krvne vzorce odvzeli le na dan vključitve v raziskavo.

Vzorce krvi za analizo smo jemali psom iz cefalične vene (v. cephalica antebrachii). Psi so bili ob odvzemu krvi tešči. Za odvzem krvi smo uporabljali vensko kanilo. Izbira kanile je bila odvisna od velikosti psa in dostopnosti žil (BD Venflon™, ZDA; 22G, 0,9 mm x 25 mm, modra ali 20 G 1 mm x 32 mm, roza).

Ob vključitvi v raziskavo, smo vsem psom določili vrednosti koagulacijskih (PČ, APTČ in koncentracija D-dimerov), hematoloških (kompletna krvna slika in diferencialna bela krvna slika) in biokemijskih (glukoza, sečnina, kreatinin, alkalna fosfataza (AP), alanin-aminotransferaza (ALT), natrij (Na), kalij (K) in klorid (Cl)) parametrov ter opravili plinsko analizo venske krvi (pH, delni tlak kisika (pO₂), delni tlak ogljikovega dioksida (pCO₂), presežek baze v zunajcelični tekočini (BE_{ecf}), hidrogen karbonatni ion (HCO₃⁻), celokupni CO₂, elektroliti (natrij (Na), kalij (K), ioniziran kalcij (Ca), klorid (Cl)), glukoza, laktat). Glede na to, da smo plinsko analizo izvajali z vensko krvjo, smo v rezultatih podali le pH, pCO₂, HCO₃⁻ in BE.

Pri drugem odvzemu krvi, smo pri psih z brahicefaličnim sindromom določili vrednosti koagulacijskih (PČ, APTČ in koncentracija D-dimerov) in hematoloških (kompletna krvna slika in diferencialna bela krvna slika) parametrov ter opravili plinsko analizo krvi.

Vzorci krvi za določitev hematoloških parametrov smo odvzeli v 0,5-mL epruvete z dodanim antikoagulantom K₃EDTA (kalijeva sol etilendiaminotetraocetne kisline; BD Microtainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, ZDA). Hematološke preiskave smo opravili v roku 1 ure po odvzemu vzorcev neposredno iz epruvet, brez predhodne priprave in pri sobni temperaturi (20–24 °C).

Vzorci krvi za pridobitev seruma za določanje koncentracije biokemijskih parametrov smo odvzeli v 4-mL epruvete s separacijskim gelom in dodatkom aktivatorja koagulacije (Vacuette; Greiner Bio-One, Kremsmünster, Avstrija). Vzorce smo pustili stati pol ure pri sobni temperaturi in jih nato 10 minut centrifugirali pri 1300 x g pri sobni temperaturi. Biokemijske preiskave smo opravili v roku 3 ur po odvzemu vzorcev.

Za opravljanje plinske analize krvi, smo odvzeli kri neposredno iz cefalične vene (v. *cephalica antebrachii*). Pri tem smo uporabljali iglo in 1-mL brizgo (Sarstedt, Numbrecht, Nemčija), ki vsebuje antiokoagulant Li-heparinat in je izključno namenjena izvajanju plinske analize venske ali arterijske krvi. Po opravljenem odvzemu krvi, smo iz brizge iztisnili morebitno prisotne zračne mehurčke ter namestili na brizgo zamašek. Brizgo smo previdno pretresli. Plinsko analizo smo opravili v času do 10 min od odvzema ter pri analizi upoštevali izmerjeno telesno temperaturo pacienta.

Vzorci krvi za pridobitev plazme, v kateri smo določali koagulacijske parametre, koagulacijska časa PČ in APTČ ter koncentracijo D-dimerov, smo odvzeli v dve 1,3-mL epruveti z dodanim antikoagulantom natrijevim citratom (Sarstedt, Numbrecht, Nemčija) ter jih v roku 1 ure od odvzema 15 minut centrifugirali pri 2000 x g pri sobni temperaturi. Ločili smo citratno plazmo in jo prenesli v dve ustrezno označeni 1,5-mL epruveti za zamrzovanje (Sarstedt, Numbrect, Nemčija). Tako pripravljene vzorce smo do analize shranili v zamrzovalniku (Sanyo Electric Co., Ltd.; Japonska), pri temperaturi –80 °C.

3.3 LABORATORIJSKE PREISKAVE

3.3.1 Koagulacijske preiskave

Določanje koagulacijskih preiskav smo izvedli, v skladu z navodili proizvajalca, z avtomatskim koagulacijskim analizatorjem STA Satellite (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, Francija) in uporabo tovarniško izdelanih, komercialno dostopnih, reagenčnih kompletov proizvajalca Stago (Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, Francija). Metode določanja posameznih koagulacijskih časov, PČ in APTČ, temeljijo na krogličnem principu, določanje koncentracije D-dimerov pa poteka na osnovi imunoturbidimetrične metode. Za določanje PČ smo uporabili reagent Neoptimal[®], ki vsebuje mešanico kalcijevih ionov in tromboplastina, pripravljenega iz ekstrakta zajčjih možganov. Za določanje APTČ smo uporabili reagent Cephascreen[®], ki vsebuje optimalno količino fosfolipida kefalina (zamenjava za trombocite) in površinski aktivator polifenol, ter raztopino kalcijevih ionov. Za določanje koncentracije D-dimerov pa smo uporabili reagenčni komplet LIATEST[®] D-Di. Ta vsebuje delce mikrolateksa, ki so obdani s humanimi protitelesi proti D-dimeru.

3.3.2 Hematološke in biokemijske preiskave

Hematološke preiskave smo opravili z avtomatskim hematološkim analizatorjem Advia 120 (Siemens, München, Nemčija), katerega delovanje temelji na citokemiji in pretočni citometriji z lasersko svetlobo in je namenjen uporabi v veterinarski medicini.

Biokemijske preiskave, z izjemo elektrolitov (Na, K, Cl) smo opravili na avtomatskem biokemijskem analizatorju RX Daytona (RANDOX, Crumlin, Velika Britanija) s pomočjo ustreznih reagentov (RANDOX, Crumlin, Velika Britanija). Koncentracije natrija, kalija in kloridov smo izmerili z avtomatskim analizatorjem Ilyte (IL-Instrumentation Laboratory, Lexington, ZDA), ki deluje na osnovi ionsko selektivnih elektrod.

3.3.3 Plinska analiza krvi

Plinsko analizo venske krvi smo opravili s plinskim analizatorjem RapidPoint 500 (Siemens, München, Nemčija) v skladu z navodili proizvajalca. Za opravljanje plinske analize krvi, je priporočen vzorec arterijske krvi. Za odvzem in analizo arterijske krvi, se v naši raziskavi nismo odločili, saj je odvzem arterijske krvi bistveno zahtevnejši postopek, od odvzema krvi iz venskega žilnega sistema. Za uspešen odvzem arterijske krvi, morajo biti živali pogosto v bočni legi, kar je pri psih z brahicefaličnim sindromom težko doseči brez pomiritve. Psi z napredovalo stopnjo brahicefaličnega sindroma so pogosto v dihalni stiski že pred prihodom na kliniko, sami postopki odvzema krvi pa še dodatno obremenijo žival. Prizadete živali lahko zaradi izrazitega stresa celo kolabirajo (Hendricks, 1992; Arulpagasam in sod., 2018). V rezultatih in razpravi zato podajamo samo vrednosti pH, $p\text{CO}_2$, HCO_3^- in BE ecf v venski krvi, ki nam podajo uporabne informacije za oceno kislinско-baznega ravnovesja (Hendricks, 1992).

3.4 ANESTEZIJA

Za premedikacijo smo psom preko venske kanile aplicirali benzodiazepin midazolam (Midazolam Torrex, Chiesi Pharmaceuticals GmbH, Avstrija) 0,1 mg/kg telesne teže (TT) v kombinaciji z opioidom butorfanolom (Butomidor, Richter pharma, Avstrija) 0,2 mg/kg TT.

Pred uvodom v anestezijo smo vsem psom vsaj 5 minut dovajali kisik preko cevi pred nos (Slika 5) in s tem zagotovili oksigenacijo pred aplikacijo propofola (3-6 mg/kg TT intravenozno (i/v), Norfol, Norbrook Laboratories Ltd, Severna Irska). Sledila je vstavitev ustreznega endotrahealnega tubusa in priklop na anestezijski dihalni sistem s hlapnim anestetikom izofluranom (Sevorane, Abbott Laboratories, Združeno kraljestvo). Ob uvodu v anestezijo so psi dobili karpofen (Rycarfa, KRKA, d.d., Slovenija) 4 mg/kg i/v. Vsem psom smo pred samo operacijo naredili tudi endoskopski pregled zgornjih dihal (postopek opisan v poglavju 3.1). Med kirurškim posegom so vsi psi dobivali Hartmanovo raztopino (B Braun, Melsungen AG, Nemčija) 5 ml/kg/h i/v. Pred anestezijo smo psom aplicirali deksametazon (Dexamethason Krka, KRKA, d.d., Slovenija) 0,1- 0,2 mg/kg intramuskularno (i/m). Aplikacijo smo ponovili po šestih urah. Za preprečevanje slabosti in bruhanja smo psom pred anestezijo aplicirali maropitant citrat (Cerenia, Zoetis, Belgija) 1 mg/kg i/v.



Slika 5: Oskrba psa s kisikom

Figure 5: Oxygenation of the dog

(Vir: Klara Škrlec)

Pse smo po koncu anestezije v mirnem okolju opazovali in počakali, da so se zbudili. Ekstubirali smo jih šele, ko tubusa niso več tolerirali. Skrbno smo spremljali telesno temperaturo in dihanje. Psi so bili nameščeni v sternalni položaj s privzdignjeno glavo, kar jim je omogočalo lažje dihanje. Za morebitno ponovno intubacijo in oksigenacijo smo vedno imeli pripravljeno vse potrebno. Nekaj ur so še ostali na tekočinski terapiji in na opazovanju, nato so bili še isti dan odpuščeni domov. 2-4 ure po premedikaciji so dobili buprenorfin (Bupredine, Produlab Pharma BV, Nizozemska) 0,02 mg/kg TT i/v.

V domači oskrbi so psi še 7 dni dobivali nesteroidni analgetik karprofen (Rimadyl, Orion Pharma Animal Health, Švedska) 2 mg/kg TT/12 ur peroralno (p/o), 14 dni esomeprazol (Nexium, Astra Zeneca AB, Švedska) 0,7 mg/kg TT/24 ur p/o in 14 dni metoklopramid (Reglan, ALKALOID INT d.o.o., Slovenija) 0,2 mg/kg TT/12 ur p/o.

3.5 KIRURŠKO ZDRAVLJENJE

Za razširitev nosnic smo uporabili tehniko klinaste resekcije. Iz lateralnega nosnega krila smo s skalpelom št. 11 izrezali del tkiva v obliki klina oziroma piramide. Reza v tkivo sta morala biti dovolj globoka, tako da smo lahko ustrezno razširili nosno odprtino. Rano smo zašili z enostavnimi posameznimi šivi, uporabili smo resorbilni monofilamentni šivalni material - glikomer 631 (Biosyn 4/0, Covidien, Dublin, Irska).

Mehko nebo smo skrajšali ter stanjšali s tehniko palatoplastike z obrnjenim režnjem. Na kavdalni del mehkega neba smo namestili držalni šiv, ki je omogočil lažjo manipulacijo tkiva. Mehko nebo smo potegnili rostralno do točke, ko so bili lepo vidni grlni hrustanci ter jo označili z rezom. Nato smo v ventralni del mehkega neba, z radiofrekvenčno napravo Surgitron Radiolase II (Ellman International, Inc., Hicksville, NY, ZDA), naredili rez trapezoidne oblike. Odstranili smo večino mehkega tkiva med nasofaringealnim in orofaringealnim področjem. Preostali del mehkega neba smo povlekli preko rane do njenega rostralnega dela in ga prišili z enostavnimi posameznimi šivi z monofilamentnim resorbilnim šivalnim materialom Glycomer 631 (Biosyn 4/0, Covidien, Dublin, Irska).

3.6 STATISTIČNA ANALIZA

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SPSS (različica 24, SPSS za okolje Windows). V prvi fazi statistične obdelave podatkov smo opravili opisno statistiko. Za posamezne parametre smo izračunali osnovne deskriptivne statistične parametre: aritmetično sredino, standardni odklon, standardno napako, mediano vrednost, maksimalno in minimalno vrednost ter druge. Normalnost porazdelitve dobljenih rezultatov smo testirali s Shapiro-Wilkovim testom. V primeru normalne porazdelitve podatkov smo za primerjavo posameznih parametrov med skupinami psov (5 skupin: kategorije psov z brahicefaličnim sindromom (kategorije 1 do 3), skupina zdravih brahicefalikov in kontrolna skupina psov) uporabili parametrične teste, to je enosmerno analizo variance, kateri je sledila primerjava rezultatov med posameznimi pari skupin s Tukeyevim HSD (angl. Honestly Significant Difference)

preizkusom. V primeru nenormalne porazdelitve podatkov smo uporabili neparametrični Kruskal-Wallisov test. Če je le-ta pokazal značilne razlike v vrednosti parametra med skupinami, je, v okviru statističnega programa, sledila primerjava med posameznimi pari ob upoštevanju Bonferronijevega popravka.

Pri primerjavi posameznih parametrov pred in 1 mesec po kirurškem zdravljenju smo, v primeru normalne porazdelitve podatkov, uporabili parametrični test, t-test za odvisne vzorce (parni t-test), v primeru nenormalne porazdelitve pa neparametrični test, Wilcoxonov test predznačnih rangov. Pri primerjavi posameznih parametrov pred in po kirurškem zdravljenju smo v statistični analizi zajeli manjše število rezultatov kot jih je bilo ob vključitvi, ker nismo uspeli pridobiti drugega vzorca krvi zaradi neodzivnosti lastnika.

V primeru normalne porazdelitve smo rezultate podali kot povprečje $\pm$ standardni odklon, v primeru nenormalne porazdelitve pa smo rezultate podali kot mediano in interkvartilni razmik (interval od 1. kvartila do 3. kvartila); dodali smo tudi najnižje in najvišje izmerjene vrednosti določenega parametra.

Rezultate smo opredelili kot statistično pomembne pri $p < 0,05$.

4 REZULTATI

4.1 OPISNI PODATKI PSOV, VKLJUČENIH V RAZISKAVO

V našo raziskavo smo vključili skupno 100 lastniških psov, od teh smo pri 74 psih potrdili prisotnost brahicefaličnega sindroma. Največ psov smo uvrstili v kategorijo 3 (Tabela 1), to je kategorija psov z najbolj napredovalo stopnjo brahicefaličnega sindroma in močno izraženimi kliničnimi znaki. V skupino psov brez znakov brahicefaličnega sindroma, ki smo jo poimenovali 'zdravi brahicefaliki', smo vključili 18 psov, v kontrolno skupino psov pa smo vključili 8 psov mezocefaličnih mešancev. Psi iz kategorije 3 (mediana 36 mesecev) so bili značilno ($p = 0,028$) starejši od psov iz kategorije 1 (mediana 13 mesecev). Med drugimi skupinami psov ni bilo značilne razlike v starosti. Tudi indeks telesne mase in telesna teža živali se nista značilno razlikovala med skupinami psov.

Najbolj zastopana pasma v vseh kategorijah brahicefaličnih psov, je bila francoski buldog. Predstavljala je 51 % (47/92) vseh vključenih brahicefalikov. Sledili so mopsi (21 %; 19/92) ter bostonski terierji (18 %; 16/92). 7 % (6/92) vključenih psov so predstavljali psi pasme ši-cu. Vključena sta bila še dva angleška buldoga, en ameriški buldog ter en jorkširski terier.

Tabela 1: Opisni podatki psov, vključenih v raziskavo

Table 1: Descriptive data of dogs included in the study

	Število	Spol	Staost (mesece)		Teža (kg)		ITM	
		(samice/samci)	Mediana	IQR	Mediana	IQR	Mediana	IQR
Kategorija 1	13	6/7	13*	8,5-28,5	8,5	6,48-12,13	3,0	3,0-3,0
Kategorija 2	28	12/16	33,5	16,5-52,75	9,99	8,5-12,53	3,0	3,0-4,0
Kategorija 3	33	11/22	36	19,5-67,0	10,00	8,4-11,55	3,0	3,0-4,0
Zdravi brahicefaliki	18	14/4	34,5	19,5-53,0	9,80	7,93-12,35	3,0	3,0-3,0
Kontrolna skupina	8	5/3	45,0	27,0-55,5	12,22	9,48-15,33	3,0	2,3-3,0

*Značilna razlika ($p = 0,028$) pri primerjavi s kategorijo 3

Vrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila); ITM, indeks telesne mase

*Significant difference ($p = 0.028$) in comparison with category 3

Values shown as median (average) and IQR, interquartile range (interval from 25. quartile to 75. quartile); ITM, body score index

4.2 REZULTATI HEMATOLOŠKIH, BIOKEMIJSKIH IN KOAGULACIJSKIH PREISKAV IN PLINSKE ANALIZE KRVI OB VKLJUČITVI V RAZISKAVO

V tabeli 2 so prikazani rezultati osnovnih hematoloških parametrov pri različnih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo in referenčne vrednosti navedenih hematoloških parametrov. V skupini zdravih brahicefalikov je bila srednja vrednost koncentracije hemoglobina rahlo nad zgornjo mejo referenčnih vrednosti, ki jih predpisuje proizvajalec hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija), katerega smo uporabili za analizo naših krvnih vzorcev. Vrednosti ostalih hematoloških parametrov so bile pri vseh skupinah živali v mejah referenčnih vrednosti.

Tabela 2: Rezultati osnovnih hematoloških parametrov pri psih v različnih kategorijah brachicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brachicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 2: Results of routine haematological parameters of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dog breeds and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Kategorija 1 (n=13)	Kategorija 2 (n=28)	Kategorija 3 (n=33)	Zdravi brachicefaliki (n=18)	Kontrolna skupina (n=8)	Referenčne vrednosti^c
WBC (x 10 ⁹ /L)	9,92 ± 2,45 ^a 6,58-14,30 ^b	11,62 ± 5,81 ^a 6,58-35,23 ^b	9,92 ± 3,0 ^a 4,89-16,93 ^b	9,48 ± 2,81 ^a 5,41-14,4 ^b	7,48 ± 1,72 ^a 5,50-10,67 ^b	5,2–13,9
RBC (x 10 ¹² /L)	7,22 ± 1,0 ^a 5,79-8,86 ^b	6,99 ± 1,03 ^a 5,0-8,62 ^b	7,02 ± 0,97 ^a 4,74-8,68 ^b	7,81 ± 0,82 ^a 6,51-9,68 ^b	7,05 ± 0,61 ^a 6,20-7,83 ^b	5,7–8,8
HGB (g/L)	170,7 ± 22,4 ^a 140,0-203,0 ^b	169,6 ± 25,6 ^a 120,0-213,0 ^b	168,5 ± 23,0 ^a 119,0-211,0 ^b	187,3 ± 18,8 ^a 158,0-222,0 ^b	172,3 ± 16,1 ^a 149,0-199,0 ^b	129–184
HCT (L/L)	0,50 ± 0,07 ^a 0,40-0,60 ^b	0,50 ± 0,08 ^a 0,35-0,63 ^b	0,50 ± 0,07 ^a 0,35-0,63 ^b	0,54 ± 0,06 ^a 0,45-0,65 ^b	0,49 ± 0,46 ^a 0,44-0,57 ^b	0,37–0,57
MCV (fL)	69,2 ± 2,3 ^a 65,4-72,7 ^b	71,0 ± 3,4 ^a 64,6-77,8 ^b	71,3 ± 2,7 ^a 64,4-78,4 ^b	69,4 ± 2,1 ^a 66,0-72,9 ^b	69,9 ± 3,4 ^a 64,4-75,8 ^b	58,8–71,2
MCH (pg)	23,7 ± 1,1 ^a 21,6-25,2 ^b	24,3 ± 0,8 ^a 22,6-26,0 ^b	24,3 ± 0,7 ^a 22,8-26,0 ^b	24,0 ± 0,8 ^a 22,7-25,6 ^b	24,1 ± 0,9 ^a 22,8-25,4 ^b	20,5–24,2
MCHC (g/L)	342,2 ± 6,2 ^a 330,0-351,0 ^b	342,4 ± 9,3 ^a 326,0-364,0 ^b	341,1 ± 8,4 ^a 322,0-361,0 ^b	345,7 ± 6,7 ^a 335,0-357,0 ^b	349,6 ± 9,7 ^a 331,0-361,0 ^b	320,0–360

^avrednosti podane kot povprečje ± standardni odklon; ^bnajmanjša do najvišja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija)

WBC, številčna koncentracija levkocitov; RBC, številčna koncentracija eritrocitov; HCT, hematokrit; HGB, koncentracija hemoglobina; MCV, povprečni volumen eritrocita; MCH, povprečna količina hemoglobina v eritrocitu; MCHC, povprečna koncentracija hemoglobina v eritrocitu

^avalues shown as mean ± standard deviation; ^bminimum to maximum values; ^creference values of hematological analyser ADVIA 120 (Siemens, München, Germany); WBC, white blood cell count; RBC, red blood cell count; HCT, hematocrit; HGB, hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration

V tabeli 3 je prikaz relativnih in absolutnih vrednosti parametrov diferencialne bele krvne slike pri posameznih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo. Prikazane so tudi referenčne vrednosti parametrov diferencialne bele krvne slike, ki jih navaja proizvajalec hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija) in literaturni vir (Moritz in sod., 2004). Srednje vrednosti parametrov so bile pri vseh skupinah psov v mejah omenjenih referenčnih vrednosti.

Tabela 3: Relativne (%) in absolutne ($\times 10^9/L$) vrednosti parametrov diferencialne bele krvne slike pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 3: Relative (%) and absolute ($\times 10^9/L$) values of white blood cell differential parameters of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dog breeds and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Kategorija 1 (n=13)	Kategorija 2 (n=28)	Kategorija 3 (n=33)	Zdravi brahicefaliki (n=18)	Kontrolna skupina (n=8)	Referenčne vrednosti ^c
NEUT (%)	45.80-79.10 ^b	48.40-88.70 ^b	44.0-82.10 ^b	56.60-73.10 ^b	48.30-65.70 ^b	42,5–77,3
10 ⁹ /L	62,5; 56,65-70,65 ^d	66,75; 61,45-71,80 ^d	63,3; 59,25-70,55 ^d	66,45; 61,68-69,95 ^d	58,4; 50,28-61,48 ^d	
	4,12-10,32 ^b	4,14-31,08 ^b	3,35-12,55 ^b	3,25-10,0 ^b	3,0-7,01 ^b	3,9–8,0
	6,21; 4,71-7,18 ^d	6,69; 4,99-7,40 ^d	5,74; 4,51-8,03 ^d	5,89; 4,38-7,98 ^d	3,86; 3,36-5,11 ^d	
LIMFO (%)	14.70-42.40 ^b	5.7-40.2 ^b	10.70-44.50 ^b	18.80-36.30 ^b	23.90-44.70 ^b	11, 8–39,6
10 ⁹ /L	29,6; 19,5-33,85 ^d	23,95; 20,33-31,53 ^d	27,3; 18,85-31,35 ^d	23,95; 21,2-28,2 ^d	32,5; 29,4-36,38 ^d	
	1,70-5,89 ^b	1,20-5,39 ^b	1,09-3,92 ^b	1,43-3,70 ^b	0,12-3,30 ^b	1,3–4,1
	2,37; 1,91-2,93 ^d	2,47; 1,90-3,22 ^d	2,39; 1,78-3,0 ^d	2,32; 1,86-2,65 ^d	2,44; 1,79-2,81 ^d	
MONO (%)	3.30-8.20 ^b	3.2-11.3 ^b	2.80-9.40 ^b	3.10-6.30 ^b	2.50-5.30 ^b	3,3–10,3
10 ⁹ /L	5,0; 4,20-5,65 ^d	4,9; 4,43-6,45 ^d	5,4; 4,20-6,85 ^d	4,45; 3,48-4,75 ^d	3,2; 2,85-3,6 ^d	
	0,31-0,82 ^b	0,25-1,62 ^b	0,18-1,18 ^b	0,17-0,80 ^b	0,14-0,38 ^b	0,2–1,1
	0,5; 0,34-0,74 ^d	0,52; 0,39-0,82 ^d	0,52; 0,37-0,64 ^d	0,4; 0,3-0,49 ^d	0,24; 0,19-0,33 ^d	

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brachicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020.
Raziskovalna naloga.

EOS (%)	0,20-9,0 ^b 2,8; 1,20-6,15 ^d	0-6,4 ^b 2,5; 1,43-4,35 ^d	0-12,10 ^b 2,7; 1,6-3,9 ^d	0,10-11,50 ^b 3,75; 2,2-5,13 ^d	3,40-10,10 ^b 5,8; 3,9-7,8 ^d	0-7,0
10 ⁹ /L	0,02-0,99 ^b 0,35; 0,1-0,65 ^d	0-0,73 ^b 0,23; 0,15-0,44 ^d	0-0,99 ^b 0,28; 0,13-0,41 ^d	0,01-1,33 ^b 0,34; 0,23-0,45 ^d	0,23-0,69 ^b 0,45; 0,26-0,67 ^d	0-0,6
BASO (%)	0,1-0,6 ^b 0,2; 0,10-0,35 ^d	0,1-0,5 ^b 0,2; 0,1-0,38 ^d	0-1,40 ^b 0,2; 0,15-0,3 ^d	0,10-0,50 ^b 0,2; 0,2-0,43 ^d	0,10-0,30 ^b 0,2; 0,13-0,28 ^d	0-1,3
10 ⁹ /L	0,01-0,05 ^b 0,02; 0,01-0,04 ^d	0,01-0,5 ^b 0,02; 0,01-0,04 ^d	0-0,16 ^b 0,02; 0,01-0,03 ^d	0,01-0,2 ^b 0,02; 0,02-0,04 ^d	0,01-0,02 ^b 0,01; 0,01-0,02 ^d	0-0,1
LUC (%)	0,10-0,50 ^b 0,2; 0,15-0,30 ^d	0,10-1 ^b 0,3; 0,1-0,5 ^d	0-1,80 ^b 0,3; 0,2-0,55 ^d	0-0,50 ^b 0,2; 0,2-0,3 ^d	0,20-0,40 ^b 0,3; 0,23-0,3 ^d	0-3,0
10 ⁹ /L	0,01-0,06 ^b 0,02; 0,02-0,03 ^d	0-0,4 ^b 0,03; 0,01-0,07 ^d	0-0,20 ^b 0,03; 0,01-0,07 ^d	0-0,20 ^b 0,03; 0,02-0,04 ^d	0,01-0,03 ^b 0,02; 0,01-0,03 ^d	0-0,3

^bnajmanjša do najvišja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija); ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila)

NEUT, neutrofilni granulociti; LIMFO, limfociti; MONO, Monociti; EOS, eozinofilni granulociti; BASO, bazofilni granulociti; LUC, ang. Large unstained cells, patološke celice

^bminimum to maximum values; ^creference values of hematological analyser ADVIA 120 (Siemens, München, Germany); ^dvalues shown as median (average) and IQR (interval from 25. quartile to 75. quartile); NEUT, neutrophilic granulocytes; LIMFO, lymphocytes; MONO, Monocytes; EOS, eosinophilic granulocytes; BASO, basophilic granulocytes; LUC, large unstained cells

V tabeli 4 so navedene koncentracije elektrolitov v serumu psov ob vključitvi v raziskavo. Pri vseh skupinah psov so bile srednje vrednosti koncentracije elektrolitov znotraj meja referenčnih vrednosti Diagostičnega laboratorija Klinike za male živali, Veterinarske fakultete v Ljubljani.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020.
Raziskovalna naloga.

Tabela 4: Koncentracija elektrolitov pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 4: Electrolyte concentrations of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dog breeds and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Natrij ^a (mmol/L)	Kalij ^d (mmol/L)	Klorid ^d (mmol/L)
Kategorija 1 (n=13)	147,69 ± 2,39	4,57; 4,37-4,75	109,5; 107,9-113,0
Kategorija 2 (n=28)	147,26 ± 2,4	4,53; 4,44-5,00	110,6; 109,2-112,7
Kategorija 3 (n=33)	146,81 ± 2,75	4,63; 4,48-4,96	110,7; 109,3-112,6
Zdravi brahicefaliki (n=18)	149,03 ± 2,44	4,80; 4,58-5,06	111,0; 109,5-112,05
Kontrolna skupina (n=8)	149,24 ± 1,36	4,31; 4,16-4,82	112,7; 112,03-114,13
Referenčne vrednosti ^c	141-152	4,37-5,37	105-115

^avrednosti podane kot povprečje ± standardni odklon; ^clastne referenčne vrednosti Diagnostičnega laboratorija Klinike za male živali, Veterinarske fakultete v Ljubljani;

^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila)^avalues shown as mean ± standard deviation;

^cReference values of the Diagnostic laboratory at Small Animal Clinic, Veterinary Faculty, University of Ljubljana; ^dvalues shown as median and IQR (from 25. quartile to 75. quartile)

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020.
Raziskovalna naloga.

V tabeli 5 so navedene vrednosti biokemijskih parametrov pri različnih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo. Navedene so tudi lastne referenčne vrednosti Diagnostičnega laboratorija na Kliniki za male živali Veterinarske fakultete v Ljubljani. Srednje vrednosti biokemijskih parametrov so bile pri vseh skupinah psov v mejah referenčnih vrednosti.

Tabela 5: Biokemijski parametri pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 5: Biochemical parameters of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dogs and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Glukoza ^d (mmol/L)	Sečnina ^d (mmol/L)	Kreatinin ^d (mmol/L)	AP ^d (U/L)	ALT ^d (U/L)
Kategorija 1 (n=13)	6,1; 5,7-6,2	5,75; 5,34-6,89	82,52; 70,22-105,41	48,5; 32,15-92,80	45,7; 36,25-65,15
Kategorija 2 (n=28)	5,8; 5,33-6,60	5,72; 4,99-6,73	86,73; 72,28-90,65	38,7; 23,33-56,78	45,4; 28,18-70,1
Kategorija 3 (n=33)	5,55; 5,33-6,38	5,13; 4,80-6,99	85,4; 71,83-92,50	33,4; 22,48-56,48	46,7; 35,65-56,22
Zdravi brahicefaliki (n=18)	5,65; 5,1-5,93	6,2; 5,39-7,15	88,63; 79,73-96,33	34,95; 23,58-48,8	51,05; 40,85-59,30
Kontrolna skupina (n=8)	5,5; 5,33-5,83	5,51; 4,81-7,99	85,62; 79,56-93,94	20,85; 13,63-32,83	35,85; 22,13-43,08
Referenčne vrednosti ^c	3,61–6,55	2,5–9,6	44,2-132,6 (60 + 1,2*TT)	AP< 1 leto: 85-224 AP> 1 leto: 20-156	21-148

^clastne referenčne vrednosti laboratorija na Kliniki za male živali, Veterinarske fakultete v Ljubljani; ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila);
AP, alkalna fosfataza; ALT, alanin-aminotransferaza; TT, telesna teža

^creference values (Diagnostic laboratory, Small Animal Clinic, Veterinary Faculty, University of Ljubljana); ^dvalues shown as median and IQR (interval from 25. quartile to 75. quartile);
AP, alkaline phosphatase; ALT, alanine aminotransferase; TT, body weight

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020.
Raziskovalna naloga.

V tabeli 6 so navedene vrednosti parametrov plinske analize venske krvi pri različnih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo. Navedene so tudi referenčne vrednosti parametrov plinske analize venske krvi (Bachmann in sod., 2018). Pri vseh kategorijah brahicefaličnega sindroma je bila srednja vrednost koncentracije HCO_3^- znotraj meja referenčnih vrednosti. Psi z brahicefaličnim sindromom vseh kategorij so imeli srednjo vrednost pH pod spodnjo mejo referenčnih vrednosti. Tudi psi v kontrolni skupini so imeli srednjo vrednost pH 7,34, kar je nekoliko pod spodnjo mejo referenčnih vrednosti (pod 7,35). Najnižji pH smo zabeležili pri kategoriji 3, v katero so vključeni psi z najbolj izraženimi znaki brahicefaličnega sindroma; najvišjo srednjo vrednost pH pa so imeli zdravi brahicefaliki.

Srednja vrednost delnega tlaka ogljikovega dioksida je bila ob vključitvi v raziskavo nad zgornjo mejo referenčnih vrednosti pri psih kategorije 1 in kategorije 3 brahicefaličnega sindroma. Najvišjo srednjo vrednost smo zabeležili pri psih v kategoriji 3 brahicefaličnega sindroma. Pri ostalih kategorijah je bila srednja vrednost pCO_2 znotraj meja referenčnih vrednosti. Povprečne vrednosti presežka baze v zunajcelični tekočini so bile pri vseh kategorijah psov znotraj meja referenčnih vrednosti.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020.
Raziskovalna naloga.

Tabela 6: Parametri plinske analize venske krvi pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 6: Parameters of venous blood gas analysis (mean $\pm$ standard deviation) of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dogs and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	pH	pCO ₂ (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	BE ecf (mmol/L)
Kategorija 1 (n=13)	7,339 $\pm$ 0,051 ^a 7,243-7,428 ^b	45,38 $\pm$ 7,84 ^a 35,8-61,3 ^b	23,12 $\pm$ 1,47 ^a 20,7-25,3 ^b	-2,19 $\pm$ 1,23 ^a -4,1- -0,90 ^b
Kategorija 2 (n=28)	7,336 $\pm$ 0,037 ^a 7,247-7,390 ^b	43,98 $\pm$ 6,00 ^a 23,5-54,6 ^b	23,03 $\pm$ 2,28 ^a 17,9-26,8 ^b	-2,43 $\pm$ 2,62 ^a -8,7- 1,3 ^b
Kategorija 3 (n=33)	7,322 $\pm$ 0,062 ^a 7,199-7,421 ^b	48,01 $\pm$ 8,50 ^a 33,9-68,2 ^b	23,50 $\pm$ 2,42 ^a 20,1-31,5 ^b	-2,16 $\pm$ 2,70 ^a -7,2-6,2 ^b
Zdravi brahicefaliki (n=18)	7,365 $\pm$ 0,035 ^a 7,302-7,432 ^b	41,77 $\pm$ 4,53 ^a 33,3-50,2 ^b	22,92 $\pm$ 1,88 ^a 20,3-26,1 ^b	-2,09 $\pm$ 2,03 ^a -5,5-1,3 ^b
Kontrolna skupina (n=8)	7,340 $\pm$ 0,028 ^a 7,303-7,370 ^b	40,59 $\pm$ 3,63 ^a 34,8-46,4 ^b	21,05 $\pm$ 1,79 ^a 18,0-22,7 ^b	-4,33 $\pm$ 1,98 ^a -7,4- -2,3 ^b
Referenčne Vrednosti ^c	7,35–7,45	28,6–44,7	18,1–26,3	-6,8-2,3

^avrednosti podane kot povprečje $\pm$ standardni odklon; ^bnajmanjša do najvišja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti (Bachmann in sod., 2018); pCO₂, venski delni tlak ogljikovega dioksida; HCO₃⁻, hidrogenkarbonatni (bikarbonatni) ion; BE ecf, presežek baze v zunajcelični tekočini

^avalues shown as mean $\pm$ standard deviation; ^bminumim to maximum values; ^creference values (Bachmann et al., 2018)
pCO₂, venous partial pressure of carbon dioxide; HCO₃⁻, bicarbonate ion; BE ecf, base excess in extracellular fluid

V tabeli 7 so navedene vrednosti številčne koncentracije trombocitov, MPV ter trombokrita pri različnih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo. Podane so tudi referenčne vrednosti, ki jih navaja proizvajalec hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija), katerega smo uporabili za analizo naših vzorcev krvi. Psi vseh kategorij brahicefaličnega sindroma so imeli srednje vrednosti številčne koncentracije trombocitov znotraj meja referenčnih vrednosti. Nadalje smo ugotovili, da so imeli psi v kontrolni skupini značilno nižjo številčno koncentracijo trombocitov v primerjavi z zdravimi brahicefaličnimi psi ($p = 0,003$) in psi z brahicefaličnim sindromom kategorije 2 ($p < 0,001$) in 3 ($p < 0,001$). Ob vključitvi v raziskavo smo trombocitozo ugotovili pri 38 od 92 brahicefaličnih psov, kar skupno znaša 41 %.

Srednja vrednost povprečnega volumna trombocita je bila nad zgornjo mejo referenčnih vrednosti pri vseh psih z brahicefaličnim sindromom ter pri zdravih psih brahicefaličnih pasem. Psi v kontrolni skupini so imeli MPV znotraj meja referenčnih vrednosti. Med skupinami psov nismo ugotovili značilnih razlik v vrednosti MPV.

Srednje vrednosti trombokrita so bile nad zgornjo mejo referenčnega intervala pri psih z brahicefaličnim sindromom kategorije 2 in kategorije 3. Psi z brahicefaličnim sindromom kategorije 1 in zdravi brahicefaliki so imeli trombokrit znotraj referenčnih meja, vendar blizu zgornje meje referenčnega intervala. Psi v kontrolni skupini so imeli trombokrit znotraj meja referenčnih vrednosti. Statistična analiza je pokazala, da imajo psi v kontrolni skupini značilno nižji trombokrit kot psi z brahicefaličnim sindromom kategorije 2 ($p = 0,001$) in 3 ($p = 0,001$) in zdravi brahicefaliki ($p = 0,002$), medtem ko je bila razlika v primerjavi s kategorijo 1 blizu značilnosti ($p = 0,051$). Med skupinami psov z brahicefaličnim sindromom (kategorije 1 do 3) nismo ugotovili značilnih razlik v vrednostih številčne koncentracije trombocitov, MPV in trombokrita.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

Tabela 7: Vrednosti številčne koncentracije trombocitov, povprečnega volumna trombocitov in trombokrita pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 7: Values of platelet count, mean platelet volume and plateletcrit of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dogs and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Kategorija 1 (n=13)	Kategorija 2 (n=28)	Kategorija 3 (n=33)	Zdravi brahicefaliki (n=18)	Kontrolna skupina (n=8)	Referenčne vrednosti ^c
PLT (x 10 ⁹ /L)	338,6 ± 100,7 ^a 225,0-588,0 ^b	384,6 ± 84,5 ^a 251,0-569,0 ^b	390,5 ± 97,8 ^a 201,0-612,0 ^b	374,4 ± 84,4 ^a 198,0-542,0 ^b	232,4 ± 54,8 ^{a*} 166,0-334,0 ^b	143,3 - 400
MPV (fL)	11,90 ± 1,22 ^a 10,40-14,10 ^b	11,13 ± 1,49 ^a 8,60-14,0 ^b	11,0 ± 1,53 ^a 8,10-14,70 ^b	11,45 ± 1,60 ^a 8,60-15,90 ^b	10,24 ± 1,31 ^a 8,60-12,60 ^b	7,0-11,0
PCT (%)	0,27-0,82 ^b 0,38; 0,31-0,45 ^d	0,29-0,76 ^b 0,42; 0,34-0,48 ^d	0,20-0,67 ^b 0,45; 0,33-0,51 ^d	0,29-0,65 ^b 0,39; 0,35-0,50 ^d	0,17-0,36 ^b 0,22; 0,20-0,27 ^{d**}	0,1-0,4

^avrednosti podane kot povprečje ± standardni odklon; ^bnajmanjša do najvišja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija); ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila)

*značilna razlika v primerjavi s kategorijo 2 (p < 0,001) in kategorijo 3 (p < 0,001) brahicefaličnega sindroma in zdravimi brahicefaliki (p = 0,003)

**značilna razlika v primerjavi s kategorijo 2 (p = 0,001) in kategorijo 3 (p = 0,001) brahicefaličnega sindroma in zdravimi brahicefaliki (p = 0,002)

PLT, številčna koncentracija trombocitov; MPV, povprečni volumen trombocita; PCT, trombokrit

^avalues shown as mean ± standard deviation; ^bminimum to maximum values; ^creference values of haematological analyser ADVIA 120 (Siemens, München, Germany); ^dvalues shown as median and IQR (interval from 25. quartile to 75. quartile)

* significant difference in comparison to category 2 (p = 0.001) and category 3 (p = 0,001) of brachycephalic syndrome and asymptomatic brachycephalic dogs (p = 0,002)

**significant difference in comparison to category 2 (p = 0,001) and category 3 (p = 0,001) of brachycephalic syndrome and asymptomatic brachycephalic dogs (p = 0,002)

PLT, platelet count; MPV, mean platelet volume; PCT, plateletcrit

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

V tabeli 8 so prikazani rezultati koagulacijskih preiskav pri različnih skupinah psov ob vključitvi v raziskavo. Psi kategorije 1 brahicefaličnega sindroma in psi v kontrolni skupini so imeli vrednosti PČ nekoliko nad zgornjo mejo referenčnega intervala (Geffre in sod., 2010). Srednje vrednosti APTČ so bile pri psih v vseh kategorijah brahicefaličnega sindroma in pri psih v kontrolni skupini znotraj referenčnih vrednosti (Geffre in sod., 2010). Srednje vrednosti koncentracije D-dimerov so bile znotraj meja referenčnih vrednosti (Bauer in sod., 2009).

Koagulacijski parametri se niso značilno razlikovali med skupinami psov. Prav tako ni bilo značilnih razlik v vrednostih koagulacijskih parametrov med psi v posameznih kategorijah brahicefaličnega sindroma.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

Tabela 8: Koagulacijski parametri pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma, skupini zdravih psov brahicefaličnih pasem in kontrolni skupini psov (mezocefalični mešanci) ob vključitvi v raziskavo

Table 8: Coagulation parameters of dogs in different categories of brachycephalic syndrome, group of asymptomatic brachycephalic dogs and control dogs (mesocephalic mixed breed) at inclusion to the study

	Kategorija 1	Kategorija 2	Kategorija 3	Zdravi brahicefaliki	Kontrolna skupina	Referenčne vrednosti
	(n=12)	(n=27)	(n=31)	(n=10)	(n=8)	
PČ (s)	8,30-12,40 ^b 9,35; 8,93-9,85 ^d	7,90-13,10 ^b 8,9; 8,50-9,25 ^d	8,0-10,70 ^b 8,70; 8,35-9,05 ^d	8,20-10,50 ^b 9,0; 8,58-9,78 ^d	8,30-10,30 ^b 9,25; 8,63-9,60 ^d	6.9-9.0 ^c
APTČ (s)	(n=10) 13,80-18,30 ^b 15,55; 14,33-17,33 ^d	(n=25) 11,80-35,0 ^b 14,30; 13,48-17,53 ^d	(n=29) 12,0-24,0 ^b 13,60; 12,90-15,50 ^d	(n=11) 11,50-16,70 ^b 13,40; 12,50-14,20 ^d	(n=7) 12,40-16,70 ^b 14,30; 13,50-15,50 ^d	13,1-17,7 ^c
D-dimeri (μg/L)	(n=13) 60,0-580,0 ^b 120; 97,5-165,0 ^d	(n=25) 50,0-480,0 ^b 175; 120,0-210,0 ^d	(n=28) 90,0-370,0 ^b 190,0; 120,0-240,0 ^d	(n=11) 90,0-370,0 ^b 150,0; 130,0-270,0 ^d	(n=7) 120,0-230,0 ^b 150,0; 140,0-180,0 ^d	23-654 ^e

^bnajmanjša do največja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti (Geffre in sod., 2010); ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila); ^ereferenčne vrednosti koncentracije D-dimerov (Bauer in sod., 2009)

PČ, protrombinski čas; APTČ, aktivirani delni tromboplastinski

^bminimum to maximum values; ^creference values (Geffre et al., 2010); ^dvalues shown as median and IQR (interval from 25. quartile to 75. quartile); ^ereference values of D-dimer concentrations (Bauer et al., 2009)

PČ, prothrombin time; APTČ, activated partial thromboplastin time

4.3 PARAMETRI HEMOSTAZE PRED IN PO OPRAVLJENEM KIRURŠKEM POSEGU

V tabeli 9 so predstavljene vrednosti številčne koncentracije trombocitov, MPV in trombokrita pri različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma pred in po opravljenem kirurškem posegu ter pri psih v kontrolni skupini. V kategoriji 1 brahicefaličnega sindroma nismo ugotovili značilnih razlik v nobenem od parametrov pred in po operaciji. V kategoriji 2 se je vrednost MPV značilno ($p = 0,025$) znižala po operaciji, ostala dva parametra nista pokazala značilnih sprememb. V kategoriji 3 se je trombokrit značilno ($p = 0,049$) zmanjšal po opravljenem kirurškem posegu, medtem ko v ostalih kategorijah brahicefaličnega sindroma ni prišlo do značilnega zmanjšanja tega parametra po operaciji. Po operaciji so imeli psi v kategoriji 2 ($p = 0,001$) in kategoriji 3 ($p = 0,005$) brahicefaličnega sindroma značilno višjo številčno koncentracijo trombocitov v primerjavi s kontrolno skupino; primerjava kategorije 1 s kontrolno skupino pa je bila blizu značilnosti ($p = 0,054$). Po posegu je bila vrednost trombokrita značilno višja v kategoriji 1 ($p = 0,049$), 2 ($p = 0,003$) in 3 ($p = 0,007$) brahicefaličnega sindroma v primerjavi s kontrolno skupino psov.

Med kategorijami psov z brahicefaličnim sindromom, ki so bile operirane, nismo ugotovili značilnih razlik v številčni koncentraciji trombocitov, MPV in trombokritu med seboj pred in po operaciji.

Tabela 9: Vrednosti številčne koncentracije trombocitov, povprečnega volumna trombocitov in trombokrita pred in po opravljenem kirurškem posegu pri psih v treh kategorijah brahicefaličnega sindroma in pri kontrolni skupini psov

Table 9: Values of platelet count, mean platelet volume and plateletcrit of dogs in different categories of brachycephalic syndrome before and after surgical treatment, and in the control group of dogs

	PLT ($\times 10^9/L$)	MPV (fL)	PCT (%)
Kategorija 1			
Pred posegom	351,4 $\pm$ 110,4 ^a 225,0-588,0 ^b	10,40-14,10 ^b 11,60; 10,80-12,63 ^d	0,27-0,82 ^b 0,38; 0,30-0,47 ^d
Po posegu (n=10)	355,9 $\pm$ 97,7 ^a 255,0-539,0 ^b	8,50-14,0 ^b 10,60; 9,60-12,25 ^d	0,25-0,53 ^b 0,38; 0,27-0,49 ^d
Kategorija 2			
Pred posegom	379,7 $\pm$ 81,9 ^a 251,0-569,0 ^b	8,60-14,0 ^b 10,90; 9,90-12,20 ^d	0,29-0,76 ^b 0,41; 0,34-0,47 ^d
Po posegu (n=27)	393,1 $\pm$ 84,6 ^a 241,0-575,0 ^b	8,20-14,90 ^b 9,90; 9,30-11,10 ^{d*}	0,24-0,85 ^b 0,36; 0,32-0,50 ^d
Kategorija 3			
Pred posegom	391,0 $\pm$ 99,7 ^a 201,0-612,0 ^b	8,20-14,70 ^b 10,50; 9,90-12,60 ^d	0,24-0,67 ^b 0,42; 0,33-0,51 ^d
Po posegu (n=29)	370,4 $\pm$ 120,6 ^a 155,0-630,0 ^b	8,50-15,80 ^b 10,40; 9,70-12,15 ^d	0,14-0,74 ^b 0,39; 0,31-0,47 ^{d*}
Kontrolna skupina (n = 8)	232,4 $\pm$ 54,8 ^a 166,0-334,0 ^b	8,60-12,60 ^b 10,24; 8,93-10,88 ^d	0,17-0,36 ^b 0,22; 0,20-0,27 ^d
Referenčne Vrednosti^c	143,3-400	7,0-11,0	0,1-0,4

^avrednosti podane kot povprečje $\pm$ standardni odklon; ^bnajmanjša do najvišja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti hematološkega analizatorja ADVIA 120 (Siemens, München, Nemčija); ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila)

* značilna razlika ($p < 0,05$) v primerjavi z vrednostjo pred posegom

PLT, številčna koncentracija trombocitov; MPV, povprečni volumen trombocita; PCT, trombokrit

^avalues shown as mean $\pm$ standard deviation; ^bminimum to maximum values; ^creference values of haematological analyser ADVIA 120 (Siemens, München, Germany); ^dvalues shown as median and IQR (interval from 25. quartile to 75. quartile)

*Significant difference ($p < 0.05$) in comparison to values before surgery

PLT, platelet count; MPV, mean platelet volume; PCT, Plateletcrit

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

V tabeli 10 so prikazane vrednosti koagulacijskih parametrov (PČ, APTČ in D-dimeri) v kategorijah psov z brahicefaličnim sindromom pred in po opravljenem kirurškem posegu ter pri psih v kontrolni skupini. Z izjemo značilnega ($p = 0,020$) znižanja PČ po posegu v kategoriji 1, v ostalih kategorijah brahicefaličnega sindroma nismo ugotovili značilnih sprememb koagulacijskih parametrov pred in po posegu. Po posegu so bile srednje vrednosti koagulacijskih parametrov v mejah referenčnih vrednosti (Bauer in sod., 2009; Geffre in sod., 2010).

Med kategorijami psov z brahicefaličnim sindromom in kontrolno skupino psov nismo ugotovili značilnih razlik pred kirurškim posegom, prav tako ni bilo značilnih razlik v vrednostih koagulacijskih parametrov (pred in po posegu) med psi v posameznih kategorijah brahicefaličnega sindroma.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

Tabela 10: Koagulacijski parametri pred in po opravljenem kirurškem posegu pri psih v treh kategorijah brahicefaličnega sindroma in pri kontrolni skupini psov

Table 10: Coagulation parameters of dogs in different categories of brachycephalic syndrome before and after surgical treatment, and in the control group of dogs.

	Kategorija 1	Kategorija 2	Kategorija 3	Kontrolna skupina	Referenčne vrednosti
PČ	(n=8)	(n=25)	(n=25)	(n=8)	
Pred posegom	8,30-12,40 ^b	7,90-13,10 ^b	8,0-10,70 ^b		
Po posegu	9,35; 8,93-9,85 ^{d*} 8,20-9,60 ^b 9,0; 8,70-9,28 ^d	8,9; 8,50-9,25 ^d 7,70-10,20 ^b 8,90; 8,20-9,15 ^d	8,70; 8,35-9,05 ^d 8,0-10,70 ^b 8,70; 8,15-9,20 ^d	8,30-10,30 ^b 9,25; 8,63-9,60 ^d	6.9–9.0 ^c
APTČ	(n=6)	(n= 24)	(n=23)	(n=8)	
Pred posegom	13,80-18,30 ^b	11,80-35,0 ^b	12,0-24,0 ^b		
Po posegu	15,55; 14,33-17,33 ^d 13,90-16,70 ^b 14,45; 13,98-16,40 ^d	14,30; 13,48-17,53 ^d 11,60-27,20 ^b 13,70; 13,13-16,03 ^d	13,60; 12,90-15,50 ^d 10,80-31,80 ^b 14,0; 13,0-16,10 ^d	12,40-16,70 ^b 14,30; 13,50-15,50 ^d	13,1–17,7 ^c
D-dimeri	(n=10)	(n=22)	(n=22)	(n=8)	
Pred posegom	60,0-580,0 ^b	50,0-480,0 ^b	90,0-370,0 ^b		
Po posegu	120,0; 97,5-165,0 ^d 20,0-220,0 ^b 135,0; 77,5-195,0 ^d	175,0; 120,0-210,0 ^d 70,0-450,0 ^b 155,0; 110,0-217,5 ^d	190,0; 120,0-240,0 ^d 60,0-450,0 ^b 165,0; 112,5-240,0 ^d	120,0-230,0 ^b 150; 140,0-180,0 ^d	23–654 ^e

^bnajmanjša do največja izmerjena vrednost; ^creferenčne vrednosti (Geffre in sod., 2010); ^dvrednosti podane kot mediana (srednja vrednost) in IQR, interkvartilni razmik (interval od 25. kvartila do 75. kvartila); ^ereferenčne vrednosti (Bauer in sod., 2009)

PČ, protrombinski čas; APTČ, activated partial thromboplastin time

*značilna razlika ($P < 0,05$) v primerjavi z vrednostmi pred posegom

^bminimum to maximum values; ^creference values(Geffre et al., 2010); ^dvalues shown as median and IQR (interval from 25. quartile do 75. quartile); ^ereference values of D-dimer concentrations (Bauer et al., 2009)

PČ, protrombin time; APTČ, activated partial thromboplastin time

* significant difference ($P < 0.05$) in comparison to values before surgery

5. RAZPRAVA

Za pse brahicefaličnih pasem je značilna močno skrajšana in široka lobanja, ki je posledica ankiloze bazokranialnega hrustanca zgodaj med razvojem. Mehka tkiva so v lobanji močno prenatrpana in tvorijo številne gube, ki zmanjšujejo premer dihalnih poti (Meola, 2013; Packer in Tivers 2015; Liu in sod., 2017a). Pri psih z brahicefaličnim sindromom, se zaradi kompleksnosti obolenja pojavljajo različni klinični znaki, najpogosteje so izražene respiratorne težave (Meola, 2013; Feng in sod., 2017; Podvršnik in Škrbec, 2019). Težave z dihanjem vodijo v pomanjkanje kisika, kar povzroči številne spremembe v organizmu. Oteženo dihanje pri teh psih ima torej tudi sistemske učinke, kar potrjuje tezo, da je brahicefalični sindrom, ki ga te pasme lahko razvijejo, sistemska bolezen in ne le bolezen respiratornega sistema (Meola, 2013; Mellema in Hoareau, 2014a; Canola in sod., 2018; Crane in sod., 2017; Fawcett in sod., 2019). Pri klinično zdravih psih brahicefaličnih pasem in pri tistih z brahicefaličnim sindromom so ugotovili spremembe parametrov plinske analize krvi, ki kažejo na hipoksijo in prisotnost respiratorne acidoze (Hendricks 1992; Hoareau in sod., 2012; Dias in sod., 2016; Canola in sod., 2018; Arulpagasam in sod., 2018; Podvršnik in Škrbec, 2019); nadalje pri teh psih ugotavljajo prisotnost policitemije (Hendricks, 1992; Hoareau in sod., 2012; Crane in sod., 2017; Canola in sod., 2018), blago povišane koncentracije vnetnih mediatorjev (Rancan in sod., 2013) in pospešeno strjevanje krvi (Hoareau in Mellema, 2015; Crane in sod., 2017). Pri angleških buldogih so ugotovili povečano koncentracijo srčnega troponina I, ki je pokazatelj poškodbe miokarda (Planellas in sod., 2012, Planellas in sod., 2015).

Patofiziologija brahicefaličnega sindroma je precej podobna patofiziologiji obstruktivne spalne apneje, ki velja za najpogostejšo motnjo spanja pri ljudeh (Hendricks in sod., 1987; Crane in sod., 2017; Gabryelska in sod., 2018; Ziherl, 2018). Podobnost spalne apneje in brahicefaličnega sindroma je ugotovil Hendricks s sodelavci (1987). Za oba sindroma je značilno abnormalno dihanje med spanjem, občasno nizka saturacija hemoglobina s kisikom, hipersomnolenca in pojavljanje apnej (Hendricks in sod., 1987; Hendricks in sod., 1991). Angleški buldog predstavlja zaradi deformiranih dihalnih poti naravni živalski model za proučevanje obstruktivne spalne apneje (Hendricks in sod., 1987). Pri ljudeh z obstruktivno spalno apnejo ugotavljajo stanje pospešenega strjevanja krvi, ki se kaže v spremembah parametrov hemostaze, vključno s povečano številčno koncentracijo trombocitov in njihovih

konstant (Terada in sod., 2011; Sökücü in sod., 2014; Bülbül in sod., 2016; Toraldo in sod., 2016; Hong in sod., 2017; Gabryelska in sod., 2018). Vzrok za razvoj pospešenega strjevanja krvi sta, po mnenju raziskovalcev, ponavljajoča se hipoksija in stanje kroničnega vnetja (von Känel in sod., 2001; Toraldo in sod., 2016), ki pa se pojavljata tudi pri psih z brahicefaličnim sindromom (Rancan in sod., 2013).

V našo raziskavo smo vključili 100 lastniških psov. Velik odziv na sodelovanje v naši raziskavi je pokazatelj izrazito naraščajočega števila psov brahicefaličnih pasem v zadnjih letih, ki pa se prepogosto soočajo s hudimi zdravstvenimi težavami. Naraščanje števila brahicefaličnih pasem strmo narašča po vsem svetu (Meola, 2013; Packer in sod., 2015; Liu in sod., 2017a). Lastniki pa se pred nakupom psa ne pozanimajo o pogostih zdravstvenih težavah, ki jih imajo ti psi. Prav tako pa težav, ko te nastopijo, lastniki in tudi veterinarji, ne uspejo prepoznati (Packer in sod., 2012; Liu in sod., 2017a).

Pri razporejanju psov v tri kategorije glede na stopnjo brahicefaličnega sindroma, smo največ psov (33) uvrstili v kategorijo 3, to so psi z najbolj izraženim brahicefaličnim sindromom. Nekoliko manj psov (28) smo uvrstili v kategorijo 2, najmanj psov (13) pa v kategorijo 1 - psi z najblažjo izraženostjo sindroma. V kategoriji 3 je bilo največ psov pasme francoski buldog (17).

V raziskavo smo vključili pse različnih starosti. Literatura opisuje, da se klinični znaki brahicefaličnega sindroma najpogosteje pojavijo med 2. in 3. letom starosti (Trappler in Moore, 2011a; Packer in sod., 2012; Meola, 2013). Psi iz kategorije 3 so bili najstarejši, njihova srednja starost je bila 36 mesecev, starost psov iz kategorije 2 pa je bila 33,5 mesecev, kar se sklada s podatki iz literature (Trappler in Moore, 2011a; Packer in sod., 2012; Meola, 2013). Psi iz kategorije 1, pri katerih so bili klinični znaki brahicefaličnega sindroma manj izraziti, so bili najmlajši. Njihova srednja starost je bila 13 mesecev. Avtorji opisujejo, da se klinični znaki brahicefaličnega sindroma lahko pojavijo tudi bolj zgodaj v življenju psov (Trappler in Moore, 2011a; Feng in sod., 2017). Najmlajši pes, pri katerem smo potrdili brahicefalični sindrom, je bil star 6 mesecev. Statistična analiza je pokazala, da so brahicefalični psi iz kategorije 3 značilno starejši od psov iz kategorije 1, kar je v nasprotju z raziskavo Podvršnik in Škrbec (2019), ki nista ugotovili razlik v starosti med psi v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma in klinično zdravimi brahicefaliki (Podvršnik in Škrbec, 2019). Brahicefalični sindrom velja za progresivno bolezen, klinični znaki s staranjem psov postajajo vedno bolj

izraziti, razvijejo se tudi sekundarne anatomske spremembe (Meola, 2013; Haimel in Dupre, 2015).

Pri psih z brahicefaličnim sindromom, pa tudi pri zdravih psih brahicefaličnih pasem, ugotavljajo povečano številčno koncentracijo eritrocitov, hematokrita (volumski delež eritrocitov) in koncentracijo hemoglobina (Hoareau in sod., 2012; Crane in sod., 2017). V primerjavi s kontrolno skupino psov nebrahicefaličnih pasem, so pri psih z brahicefaličnim sindromom in pri klinično zdravih psih brahicefaličnih pasem, ugotovili nizek delni tlak kisika, nizko nasičenje hemoglobina s kisikom in visok delni tlak ogljikovega dioksida (Hoareau in sod., 2012; Dias in sod., 2016; Arulpagasam in sod., 2018; Canola in sod., 2018;). Nizek delni tlak kisika vodi v hipoksijo, ki je močan stimulus za produkcijo eritrocitov (Hendricks, 1992; Hoareau in sod., 2012; Canola in sod., 2018; Crane in sod., 2017). V naši raziskavi je imela skupina zdravih brahicefalikov srednjo vrednost koncentracije hemoglobina rahlo nad zgornjo mejo referenčnega intervala. Pri psih v ostalih kategorijah brahicefaličnega sindroma so bile srednje vrednosti hematoloških parametrov (trombociti so opisani posebej) v mejah referenčnih vrednosti (hematološki analizator ADVIA 120, Siemens, München, Nemčija).

Ob vključitvi v raziskavo so bile srednje vrednosti biokemijskih parametrov seruma znotraj meja lastnih referenčnih vrednosti Diagnostičnega laboratorija Klinike za male živali, Veterinarske fakultete v Ljubljani in v skladu z literaturnimi podatki (Nemec Svete in Frangež, 2013).

Psi brahicefaličnih pasem imajo pogosto zmanjšan dihalni volumen in pospešeno frekvenco dihanja. Hipoventilacija zmanjšuje izmenjavo plinov v alveolah, zmanjšuje parcialni tlak kisika v krvi ter vodi v stanje respiratorne acidoze (Hoareau in sod., 2012; Fawcett in sod., 2019). Do respiratorne acidoze pride zaradi povišanega parcialnega tlaka ogljikovega dioksida. Več ogljikovega dioksida v organizmu vodi v rast koncentracije vodikovih ionov, ki znižujejo pH. V naši raziskavi smo psom za plinsko analizo odvzeli vensko kri, saj je jemanje arterijske krvi bolj zahtevna metoda, za katero je treba žival pomiriti oz. anestezirati. Prav tako pa bi psom z brahicefaličnim sindromom dodatno povzročali precej stresa in tako vplivali na rezultate. Ob vključitvi v raziskavo so imeli psi iz kategorije 1 in 3 brahicefaličnega sindroma srednje vrednosti venskega $p\text{CO}_2$ nad zgornjo mejo referenčnega intervala (Bachmann in sod., 2018). Psi iz kategorije 2 pa so imeli venski $p\text{CO}_2$ na zgornji meji referenčnega intervala (Bachmann in sod., 2018). V naši raziskavi je bila srednja vrednost koncentracije HCO_3^- in presežka baze

v zunajcelični tekočini znotraj meja referenčnih vrednosti (Bachmann in sod., 2018). Psi z izraženim brahicefaličnim sindromom vseh kategorij so imeli srednjo vrednost pH pod spodnjo mejo referenčnih vrednosti (Bachmann in sod., 2018). Najnižji pH smo zabeležili pri brahicefaličnih psih iz kategorije 3; to je kategorija z najbolj izraženim brahicefaličnim sindromom. Znižan pH kaže na stanje respiratorne acidoze, ki sta ga v svoji raziskavi opisali tudi Podvršnik in Škrbec (2019).

Podobno kot pri ljudeh z obstruktivno spalno apnejo, se tudi pri psih brahicefaličnih pasem sistemske težave odražajo v motnjah strjevanja krvi. Izsledki edinih dveh raziskav, ki temeljita na metodi tromboelastografije, kažejo, da se pri klinično zdravih buldogih (Hoareau in Mellema, 2015) in buldogih z brahicefaličnim sindromom (Crane in sod., 2017) pojavi stanje pospešenega strjevanja krvi, kar privede do večjega tveganja za nastanek krvnih strdkov. Raziskovalci navajajo, da je stanje pospešenega strjevanja krvi pri teh psih, posledica prisotnosti sistemskega vnetja, aktivacije trombocitov ter zakasnele fibrinolize (Hoareau in Mellema, 2015; Crane in sod., 2017)

V naši raziskavi smo v okviru hemostatskega profila določali številčno koncentracijo trombocitov, koagulacijska časa PČ in APTČ ter koncentracijo D-dimerov. Izsledke naše raziskave smo primerjali z rezultati pridobljenimi pri bolnikih z OSA, saj v literaturi nismo našli podatkov o številčni koncentraciji trombocitov, trombocitnih konstantah (MPV in trombokrit), PČ, APTČ in koncentraciji D-dimerov pri psih z brahicefaličnim sindromom.

Naša hipoteza je bila, da ima slaba prehodnost zgornjih delov dihalnih poti, pri psih z brahicefaličnim sindromom sistemske učinke, ki povzročijo spremembe v procesu hemostaze značilne za stanje pospešenega strjevanja krvi.

Pri psih se stanje pospešenega strjevanja krvi lahko odraža v skrajšanem PČ in APTČ ter povečani koncentraciji D-dimerov (Bauer in sod., 2009; Song in sod., 2016). Z izjemo globalnih koagulacijskih metod, tromboelastografije, celokupnega hemostatskega potenciala in metode spremljanja tvorjenja trombina, s katerimi dobimo vpogled v celotno hemostazo, ni na voljo nobenega posameznega testa, ki bi omogočal ugotovitev stanja pospešenega strjevanja krvi (Lance, 2015; Song in sod., 2016).

Pri obstruktivni spalni apneji se poveča aktivnost trombocitov, ki imajo ključno vlogo v procesu hemostaze. Aktivirani trombociti spremenijo svojo značilno diskoidno obliko, na njihovi

površini pride do tvorbe številnih podaljškov. Tako se poveča povprečna prostornina trombocitov (MPV) v krvnem obtoku (Sanner in sod., 2001; Toraldo in sod., 2016; Gabryelska in sod., 2018). Trombociti nimajo ključne vloge le v procesu hemostaze, temveč so pomemben člen pri nastanku kardiovaskularnih obolenj, ki so pogosta pri ljudeh z obstruktivno spalno apnejo (Sanner in sod., 2001, von Känel in sod., 2001; Bradley in Floras, 2009; Gabryelska in sod., 2018). Na nastanek kardiovaskularnih obolenj pri ljudeh vpliva predvsem stimulacija simpatičnega živčnega sistema, spremembe v regulaciji krvožilja, strukturne spremembe endotelija, oksidativni stres, kronično sistemsko vnetje ter arterijska hipertenzija (von Känel in sod., 2001; Bradley in Floras, 2009; Gabryelska in sod., 2018). Tudi pri psih brahicefaličnih pasem so ugotovili vpliv brahicefaličnega sindroma na kardiovaskularni sistem. Že pri mladih psih so bila ugotovljena odstopanja, kot so povišan parasimpatični tonus, višje vrednosti srednjega arterijskega tlaka in znižane vrednosti nasičenja hemoglobina s kisikom (saturacije). Povečan parasimpatični tonus je posledica stalnega povečanega tlaka v prsni votlini, ki nastane zaradi povečanega upora pri vdihu. Vpliv na tonus ima tudi količina cervikalnega mehkega tkiva (nagubana in mnogokrat zamaščena koža brahicefaličnih pasem), ki lokalno pritiska na sapnik in tako zvišuje trahealni pritisk in ima vpliv na žilni upor (Dias in sod., 2016). Poleg omenjenega so pri angleških buldogih ugotovili povečano koncentracijo srčnega troponina I, ki je pokazatelj poškodbe miokarda (Planellas in sod., 2012, Planellas in sod., 2015).

Ob vključitvi v našo raziskavo so imeli psi v vseh kategorijah brahicefaličnega sindroma srednje vrednosti številčne koncentracije trombocitov znotraj meja referenčnih vrednosti, kot jih predpisuje proizvajalec hematološkega analizatorja (ADVIA 120, Siemens, München, Nemčija). Ugotovili smo, da imajo poleg psov z brahicefaličnim sindromom (kategorija 2 in 3) tudi zdravi brahicefaliki značilno višjo številčno koncentracijo trombocitov v primerjavi s kontrolno skupino psov. Slednje lahko verjetno pripišemo dejstvu, da so bili v kategorijo zdravih brahicefalikov vključeni psi na osnovi anamneze ter lastnikovih opažanj in kliničnega pregleda psa. Te pse bi morda na osnovi endoskopskega pregleda uvrstili v eno izmed kategorij brahicefaličnega sindroma, saj je znano, da 70 % lastnikov brahicefaličnih psov pri njih ne prepozna težav. Razlika v primerjavi številčne koncentracije trombocitov med kategorijo 1 in kontrolno skupino je bila blizu meje statistične značilnosti. Ob vključitvi v raziskavo smo ugotovili trombocitozo pri 41 % vseh brahicefaličnih psov vključenih v raziskavo, tj. 38 od 92, medtem ko so imeli vsi psi v kontrolni skupini številčno koncentracijo trombocitov znotraj meja referenčnih vrednosti. Značilno višjo številčno koncentracijo trombocitov so ugotovili tudi pri

pacientih s spalno apnejo, v primerjavi z zdravimi ljudmi (Yousef in sod., 2015). Povečana številčna koncentracija trombocitov sama po sebi ne povečuje verjetnosti nastanka trombov. Na nastanek teh vpliva povečana aktivnost in agregacija trombocitov (Kittrell in Berkwitt, 2012; Gabryelska in sod., 2018). Pri psih, z predhodno odstranitvijo vranice je bila ugotovljena povezava med trombocitozo in spremenjenimi parametri tromboelastografije, ki kažejo na stanje pospešenega strjevanja krvi. Študija sicer ni bila opravljena na psih brahicefaličnih pasem, pač pa so bili vanjo vključeni psi drugih pasem (Phipps in sod., 2020).

Povprečni volumen trombocita je parameter, ki nam pove povprečno velikost trombocitov v krvnem obtoku in je lahko tudi indikator trombocitne aktivnosti (Wiwanitkit, 2004; Yousef in sod., 2015).

Povprečni volumen trombocita je bil ob vključitvi v raziskavo povečan, nad zgornjo mejo referenčnega intervala pri vseh kategorijah psov z brahicefaličnim sindromom in pri zdravih brahicefalikih, medtem ko so imeli psi v kontrolni skupini MPV znotraj meja referenčnih vrednosti. Pri ljudeh so ugotovili, da se MPV povečuje z naraščanjem stopnje OSA ter s sočasnim razvojem kardiovaskularnih bolezni. Ugotovljena je bila tudi povezava med naraščanjem MPV ter številom apnej in hipopnej² na uro spanca (Bradley in Floras, 2009; Gabryelska in sod., 2018). Povprečni volumen trombocita velja za enega izmed najboljših pokazateljev funkcionalnosti ter aktivnosti trombocitov. Povišane vrednosti MPV so povezane tudi s skrajšanjem časa strjevanja krvi (Sunnecioglu in Karadas, 2014). Kljub temu je klinični pomen MPV, kot pokazatelja aktivacije trombocitov, tromboemboličnih stanj in tudi sistemskega vnetja, še vedno vprašljiv. Povišan MPV je lahko vzrok ali pa posledica tromboze. Na vrednosti MPV lahko vplivajo številne predanalitične napake (Mischke, 2012b; Gabryelska in sod., 2018), katerim se izognemo z izvajanjem hematoloških preiskav znotraj 4 ur od odvzema. V naši raziskavi smo hematološke preiskave opravili znotraj ene ure od odvzema vzorcev krvi.

Trombokrit predstavlja volumen, ki ga v krvi zasedejo trombociti. Izračuna se kot produkt števila trombocitov in MPV ter se podaja v odstotkih (Sunnecioglu in Karadas, 2014). Ugotovili smo, da so imeli psi v kontrolni skupini ob vključitvi v raziskavo značilno nižje vrednosti trombokrita kot psi z brahicefaličnim sindromom iz kategorije 2 in 3 ter zdravi brahicefaliki, kar sovпада z rezultati, ki se nanašajo na številčno koncentracijo trombocitov.

² Hipopneja – plitvo dihanje z znižano frekvenco (vir: Slovenski medicinski slovar)

Povečana vrednost trombokrita namreč odraža povečano številčno koncentracijo trombocitov in MPV. Razlika v primerjavi med psi z brahicefaličnim sindromom kategorije 1 in kontrolno skupino je bila na meji statistične značilnosti ($p = 0,051$).

Izsledki naše študije nakazujejo na določeno vlogo trombocitov in njihovih konstant pri brahicefaličnem sindromu. Pri vseh skupinah psov brahicefaličnih pasem je bil MPV, ob vključitvi v raziskavo nad vrednostmi referenčnega intervala (hematološki analizator ADVIA 120, Siemens, Nemčija). Ob vključitvi v raziskavo je bila povprečna številčna koncentracija trombocitov pri psih v kategorijah 2 in 3 brahicefaličnega sindroma ter zdravih brahicefalikih sicer znotraj meja referenčnih vrednosti, vendar so bile vrednosti tega parametra značilno višje kot pri kontrolni skupini psov.

Ob vključitvi v raziskavo so imeli psi kategorije 1 brahicefaličnega sindroma in psi v kontrolni skupini vrednosti PČ nekoliko nad zgornjo mejo referenčnega intervala (Geffre in sod., 2010). Tudi psi iz ostalih skupin so imeli PČ na zgornji meji oziroma blizu zgornje meje referenčnega intervala, kar bi morda pripisali dejstvu, da smo v naši raziskavi določali PČ, pa tudi APTČ in koncentracijo D-dimerov iz vzorcev zamrznjene citratne plazme, medtem ko so Geffre in sodelavci (2010) določali koagulacijske čase v času do 4 ure po odvzemu, torej v svežih, nezamrznjenih, vzorcih plazme. Nadalje bi lahko nekoliko višje vrednosti PČ pripisali uporabi reagenta, ki se je nekoliko razlikoval od uporabljenega v raziskavi Geffre in sodelavcev (2010). Rezultati merjenja PČ ob vključitvi v raziskavo so nasprotujoči naši hipotezi. Pri upočasnjem strjevanju krvi pride do podaljšanja PČ, pri pospešenem strjevanju krvi pa do skrajšanja PČ in tudi APTČ. Povezavo med skrajšanim PČ ali APTČ in povišano verjetnostjo nastanka venskih trombov, so ugotovili v retrospektivni študiji pri psih (Song in sod., 2016). Na povišane vrednosti PČ lahko vplivajo tudi predanalitične napake, ki so vezane predvsem na jemanje vzorcev krvi (Favoloro in sod., 2012). Tako PČ, kot tudi APTČ se lahko povišata pri premalo napolnjeni epruveti, saj to vodi v previsoko koncentracijo natrijevega citrata in s tem v neustrezno razmerje med volumenom krvi in količino antikoagulant (ki mora biti 1:9 - antikoagulant:krvi). PČ in APTČ sta lahko povišana tudi pri visokih vrednostih hematokrita ter kadar pride do strjevanja krvi pred testiranjem. Vrednosti PČ in APTČ so lahko povišane tudi, kadar jemljemo krvne vzorce s pomočjo kanil, ki vsebujejo heparin. V tem primeru bi morali kanilo najprej sprati s 5 ml fiziološke raztopine, nato pa zavreči prvih 5 ml krvi (Song in sod. 2016; Hemostasis, 2020). Predanalitičnim napakam smo se poskusili izogniti tako, da smo vzorce krvi za teste strjevanja krvi vzeli kot zadnje.

Srednje vrednosti APTČ so bile pri vseh kategorijah brahicefaličnih psov in psih v kontrolni skupini znotraj meja referenčnega intervala (Geffre in sod., 2010). Kot že omenjeno je to lahko posledica predanalitičnih napak, povezanih z jemanjem krvi (Hemostasis, 2020). Pri nekaterih psih so vrednosti APTČ, izmerjene v vzrocih pred ali po kirurškem posegu, presegle najvišjo tehnično vrednost, ki jo lahko koagulacijski analizator izmeri. Pri analizi, v teh vzorcih ni prišlo do tvorbe strdka. Analize smo ponovili z vzporedno shranjenimi vzorci plazme in dobili iste rezultate, ki so najverjetnje posledica predanalitičnih napak. Te rezultate smo izključili iz statistične analize, saj niso odražali realnega zdravstvenega stanja psov, vključenih v našo raziskavo. Psi z nemerljivimi APTČ namreč niso imeli nobenih kliničnih znakov koagulopatije (krvavitev).

Srednje vrednosti koncentracije D-dimerov so bile znotraj meja referenčnih vrednosti, ki so bile postavljene na avtomatskem koagulacijskem analizatorju z istim reagenčnim kompletom kot smo ga uporabili v naši raziskavi (Bauer in sod., 2009).

Povišana koncentracija D-dimerov morda ni specifična za stanje pospešenega strjevanja krvi, je pa to marker pospešenega strjevanja krvi. Dvig koncentracije D-dimerov se tako pogosto pojavi pri psih z diseminirano intravaskularno koagulacijo, pri trombemboliji, imunsko mediirani hemolitični anemiji, hiperadrenokorticismu ter drugih stanjih, ki lahko povzročajo stanje pospešenega strjevanja krvi (Caldin in sod., 2000; Dewhurst in sod., 2008; Giannouloupoulos in sod., 2010; Zoia in sod., 2019). D-dimeri nastanejo po fibrinolizi, ki sledi nastanku tromba. Ker so psi s stanjem pospešenega strjevanja krvi nagnjeni k tvorbi trombov, lahko sklepamo, da imajo povišano koncentracijo D-dimerov (Song in sod., 2016). Glede na naše rezultate ne moremo potrditi naše prve hipoteze, saj z izbranimi preiskavami nismo ugotovili stanja pospešenega strjevanja krvi pri psih brahicefaličnih pasem. Prav tako ni bilo značilnih razlik med posameznimi kategorijami psov z izraženim brahicefaličnim sindromom. Noben od operiranih psov tudi ni imeli klinično zaznavnih težav povezanih s stanjem pospešenega strjevanja krvi.

V nasprotju z našimi rezultati, so pri ljudeh s spalno apnejo ugotovili spremembe hemostatskega profila, ki kažejo na prisotnost stanja pospešenega strjevanja krvi. Tako so pri ljudeh z najvišjo stopnjo OSA ugotovili značilno krajši PČ v primerjavi z nižjima kategorijama OSA, blago in zmerno (Basavaraj in sod., 2019) in v primerjavi s kontrolno skupino zdravih oseb (Hong in sod., 2017). Pri bolnikih z OSA, ki so bili izpostavljeni kratkotrajni hipoksiji so ugotovili

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

značilno višjo koncentracijo D-dimerov (von Känel in sod., 2001). Nadalje pri ljudeh z OSA poročajo o spremembah nekaterih drugih hemostatskih parametrov, ki kažejo na prisotnost stanja pospešenega strjevanja krvi (von Känel in sod., 2001; Terada in sod., 2011; Liak in Fitzpatrick, 2011; Toraldo in sod., 2016).

Ob izrazitih kliničnih znakih brahicefaličnega sindroma in zmanjšanju kvalitete življenja psa, je terapija izbora kirurška širitev zgornjih dihalnih poti (Trappler in Moore, 2011b; Findji in Dupre, 2013). Pri ljudeh se kot zlati standard zdravljenja obstruktivne spalne apenije uporablja terapija z aparatom, ki omogoča neprekinjen stalni pozitiven tlak v dihalnih poteh. Kmalu po začetku terapije se parametri koagulacije pri bolnikih večinoma izboljšajo. Povprečni volumen trombocita, ki je pokazatelj aktivnosti trombocitov in agregacije, se značilno zmanjša (Bradley in Floras, 2009; Toraldo in sod., 2016).

Naša druga hipoteza je bila, da kirurško zdravljenje brahicefaličnega sindroma vpliva na parametre hemostaze: zniža se številčna koncentracija trombocitov, PČ in APTČ se normalizirata ter zmanjša se koncentracija D-dimerov.

Pri brahicefaličnih psih iz kategorije 1 brahicefaličnega sindroma nismo ugotovili značilnih razlik v nobenem od trombocitnih parametrov pred in po operaciji. Pri psih v kategoriji 2 brahicefaličnega sindroma se je od trombocitnih parametrov značilno znižal le MPV, pri psih iz kategorije 3 pa se je znižala vrednost trombokrita, kar bi lahko pripisali sicer neznačilnemu zmanjšanju števila trombocitov. Ostali parametri se po opravljenem kirurškem posegu, niso značilno spremenili, kar kaže na to, da kirurški poseg ni vplival na omenjene parametre.

Tudi po opravljenem kirurškem posegu, so imeli psi v kontrolni skupini značilno nižjo številčno koncentracijo trombocitov kot psi iz kategorije 2 in 3 brahicefaličnega sindroma. Pri primerjavi psov kontrolne skupine s psi iz kategorije 1 brahicefaličnega sindroma, je bila razlika blizu statistične značilnosti ($p = 0,054$). Po opravljenem kirurškem posegu so imeli psi v kontrolni skupini značilno nižjo vrednost trombokrita v primerjavi s psi vseh kategorij brahicefaličnega sindroma. V naši raziskavi smo ugotovili tudi, da med tremi kategorijami psov z brahicefaličnim sindromom, ni bilo značilne razlike v številčni koncentraciji trombocitov, MPV in trombokritu pred in po opravljenem kirurškem posegu.

Z izjemo PČ v kategoriji 1 brahicefaličnega sindroma, so bile srednje vrednosti PČ, APTČ in D-dimerov ob vključitvi v raziskavo in po posegu v mejah referenčnih vrednosti (Geffre in sod.,

2010). Med kategorijami psov z brahicefaličnim sindromom, zdravimi brahicefaliki in kontrolno skupino psov nismo ugotovili značilnih razlik v vrednostih PČ, APTČ in D-dimerov, ob vključitvi v raziskavo in po posegu. Nadalje, smo ugotovili, da kirurško zdravljenje ni imelo vpliva na omenjene parametre hemostaze, kljub temu, da smo ugotovili značilno znižanje PČ v kategoriji 1 brahicefaličnega sindroma po kirurškem zdravljenju.

Rutinski testi strjevanja krvi, kot sta PČ in APTČ so zelo uporabni v primeru ugotavljanja stanj upočasnjene strjevanja krvi, medtem ko imajo pri ugotavljanju pospešenega strjevanja krvi omejeno vlogo (Phipps in sod., 2020). Protrombinski čas in APTČ nista močno občutljivi preiskavi za povišanje prokoagulatornih faktorjev, kljub temu pa lahko predvsem znižan APTČ včasih nakazuje na njihovo povišanje in morebiten nastanek trombov (Favoloro in sod., 2012). Povezavo med skrajšanim PČ in APTČ ter kliničnimi znaki pospešenega strjevanja krvi so pri psih ugotovili Song in sodelavci (2016). Za oceno stanja pospešenega strjevanja krvi se v zadnjem času uporabljajo globalne koagulacijske preiskave (Lance, 2015), kot na primer metoda tromboelastografije, ki je dinamični *in vitro* test hitrosti nastanka in čvrstosti krvnega strdka (Lance, 2015; Phipps in sod., 2020).

V naši raziskavi nismo ugotovili kliničnih sprememb in sprememb parametrov hemostatskega profila, ki bi kazali na stanje pospešenega strjevanja krvi pri psih z brahicefaličnim sindromom in zdravih brahicefalikih. V naši raziskavi, žal, nismo mogli uporabiti metode tromboelastografije ali katere druge globalne koagulacijske preiskave s katerimi bi morda ugotovili odstopanja značilna za stanje pospešenega strjevanja krvi. Značilno višja številčna koncentracija trombocitov, MPV in trombokrita kaže na to, da imajo trombociti in njihove konstante, podobno kot pri ljudeh z OSA, določeno vlogo pri brahicefaličnem sindromu.

Glede na izsledke naše raziskave in pomanjkanje podatkov o parametrih hemostaze pri psih brahicefaličnih pasem, bi bilo pri teh psih, za oceno hemostaze, smiselno določiti številčno koncentracijo trombocitov in njihove konstante, kar je rezultat rutinske hematološke preiskave, ter uporabiti eno izmed globalnih koagulacijskih preiskav v vsakdanji klinični praksi. Vsekakor bi bile potrebne nadaljnje raziskave hemostaze pri večjem številu psov z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu v okviru katerih bi opravili eno izmed globalnih koagulacijskih preiskav ter določili nekatere molekule, kot na primer trombin - antitrombin

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

kompleks (TAT) in protein C, s katerimi bi bolje opredelili morebitno stanje pospešenega strjevanja krvi pri teh psih oziroma bi izvor povečane številčne koncentracije trombocitov, s katero smo ugotovili pri psih z brahicefaličnim sindromom, iskali v drugih vzorkih, kot na primer v prisotnosti kroničnega vnetnega procesa, npr. v prebavilih.

6. SKLEPI

1. Pri psih v različnih kategorijah brahicefaličnega sindroma in zdravih psih brahicefaličnih pasem nismo ugotovili stanja pospešenega strjevanja krvi.
2. Psi v kategoriji 2 in 3 brahicefaličnega sindroma in zdravi psi brahicefaličnih pasem so imeli značilno višjo številčno koncentracijo trombocitov in trombokrita v primerjavi s kontrolno skupino psov, kar kaže na določeno vlogo teh celic pri psih brahicefaličnih pasem.
3. Vrednosti MPV in trombokrita najverjetneje kažejo na prisotnost aktiviranih trombocitov pri psih brahicefaličnih pasem.
4. Kirurško zdravljenje ni vplivalo na izbrane parametre hemostaze, je pa izboljšalo klinično sliko psov v vseh kategorijah brahicefaličnega sindroma.

7. ZAHVALA

Zahvaljujema se mentorici doc. dr. Vladimiri Erjavec, dr. vet. med. in somentorici izr. prof. dr. Alenki Nemec Svete, univ. dipl. inž. kem. inž. za potrpežljivost, usmerjanje in pomoč pri izvedbi ter pisanju raziskovalne naloge. Izr. prof. dr. Alenki Nemec Svete, univ. dipl. inž. kem. inž. se zahvaljujema tudi za statistično obdelavo podatkov in pomoč pri interpretaciji.

Hvala Aleksandru Jenku, kemijskemu tehniku laboratorija Klinike za male živali Veterinarske fakultete v Ljubljani (KMŽ), za čas in pomoč pri delu z vzorci v laboratoriju.

Hvala osebju KMŽ, ki nama je pomagalo pri kontrolnih odvzemih krvi. Hvala tudi za omogočeno okolje in material za delo.

Hvala mag. Giti Grecc Smole za vso pomoč pri navajanju literature.

Zahvaljujema se tudi za motivacijo s strani najinih družin in prijateljev, ki so naju podpirali in bodrili v času izdelave naloge.

8. LITERATURA

1. Arnout J, Hoylaerts MF, Lijnen HR. Haemostasis. *Handb Exp Pharmacol* 2006; (176 Pt 2): 1–41.
2. Arulpagasam S, Lux C, Odunayo A, Biskup J, Sun X. Evaluation of pulse oximetry in healthy brachycephalic dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2018; 54 (6): 344–50.
3. Austin KS. Haemostasis. *Medicine* 2013; 41(4): 208–11.
4. Bachmann K, Kutter APN, Schefer R, Sigrist NE. Determination of reference intervals and comparison of venous blood gas parameters using a standard and non-standard collection method in 51 dogs. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2018; 160 (3): 163–70.
5. Backer CD. Diagnosis of disorders of hemostasis. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, eds. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2nd ed. Ames, Iowa : John Wiley & Sons, 2012: 185–204.
6. Basavaraj PB, Tejaswini JS, Samanvaya S. Hemostatic alterations in patients with obstructive sleep apnea: an observational study. *Int J Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2019; 5 (4): 990–6.
7. Bauer N, Eralp O, Moritz A. Reference intervals and method optimization for variables reflecting hypocoagulatory and hypercoagulatory states in dogs using theSTA Compact automated analyzer. *J Vet Diagn Invest* 2009; 21: 803–14
8. Blois S. Hyper- and hypocoagulable states. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 8th ed. St. Louis : Elsevier, 2017: 2062–77.
9. Bohinjec J. Temelji klinične hematologije. Ljubljana: Univerzum, 1983: 149–213.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brachicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

10. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet* 2009; 373: 82–93.
11. Bruno CM, Valent M. Acid-base disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a pathophysiological review. *J Biomed Biotechnol* 2012: e915150. doi: 10.1155/2012/915150
12. Bülbül Y, Aydın Özgür E, Örem A. Platelet indices in obstructive sleep apnea: the role of mean platelet volume, platelet distribution width and plateletcrit. *Tuberk Toraks* 2016; 64 (3): 206–10.
13. Caldin M, Furlanello T, Lubas G. Validation of an immunoturbidimetric D-dimer assay in canine citrated plasma. *Vet Clin Pathol* 2000; 29: 51–4
14. Canola RAM, Sousa MG, Braz JB, et al. Cardiorespiratory evaluation of brachycephalic syndrome in dogs. *Pesqu Vet Bras* 2018; 38 (6): 1130–6.
15. Crane C, Rozanski EA, Abelson AL, deLaforcade A. Severe brachycephalic obstructive airway syndrome is associated with hypercoagulability in dogs. *J Vet Diagn Invest* 2017; 29 (4): 570–3.
16. Dewhurst E, Cue S, Crawford E, Papasouliotis K. A retrospective study of canine D-dimer concentrations measured using an immunometric "Point-of-Care" test. *J Small Anim Pract* 2008; 49 (7): 344–8.
17. Dias MLD, Morris CFM, Moreti BM, et al. Anatomical, cardiovascular, and blood gas parameters in dogs with brachycephalic syndrome. *Acta Sci Vet* 2016; 44 (1): e1356 (6 str.) doi: 10.22456/1679-9216.80932
18. Domanjko Petric A, Brložnik M, Erjavec V, Nemec Svete A. Right heart remodeling in brachycephalic obstructive airway syndrome. In: 29th Annual Congress of European College of Veterinary Internal Medicine: Companion Animals. Milano, 2019: 96.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brachicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

19. Dupre G. Brachycephalic syndrome: new knowledge, new treatments [online]. In: 33rd Congress of World Small Animal Veterinary Association Proceedings. Dublin, 2008.
<https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11268&meta=generic&id=3866534>
20. Dupre GP, Poncet CM. Respiratory system: brachycephalic upper airways syndrome. In: Bojrab MJ, Monnet E, eds. Mechanisms of diseases in small animal surgery. 3rd ed. Jackson : Teton New Media, 2010: 298–301.
21. Fasanella FJ, Shivley JM, Wardlaw JL, Givaruangsawat S. Brachycephalic airway obstructive syndrome in dogs: 90 cases (1991–2008). J Am Vet Med Assoc 2010; 237 (9): 1048–51.
22. Favoloro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in hemostasis. Lab Med 2012; 43 (2): e1–10. doi: 10.1097/MBC.0b013e3280116c73
23. Fawcett A, Barrs V, Awad M, et al. Consequences and management of canine brachycephaly in veterinary practice: perspectives from Australian veterinarians and veterinary specialists. Animals 2019; 9(1): e3. doi:10.3390/ani9010003
24. Feng T, McConnell C, O'Hara K, Chai J, Spadafori G. The nationwide® brachycephalic breed disease prevalence study: short-nosed breeds more often affected by common conditions, not just known issue [online]. Swindon : Nationwide, March 2017: 8 str.
<http://nationwidedvm.com/wp-content/uploads/2017/03/NWBrachycephalicStudy0317.pdf> (10. 2. 2020)
25. Findji L, Dupre G. Brachycephalic syndrome: innovative surgical techniques. Clin Brief 2013; 11: 79–85.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brachicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

26. Findji L, Dupre G. Folded flap palatoplasty for treatment of elongated soft palates in 55 dogs. *Wien Tierarztl Monatsschr* 2008; 95: 56–63.
27. Gabryelska A, Łukasik ZM, Makowska JS, Białasiewicz P. Obstructive sleep apnea: from intermittent hypoxia to cardiovascular complications via blood platelets. *Front Neurol* 2018; 9: e635. doi: 10.3389/fneur.2018.00635
28. Geffre A, Grollier S, Hanot C, et al. Canine reference intervals for coagulation markers using the STA Satellite® and the STA-R Evolution® Analyzers. *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 690–5.
29. Giannouloupoulos GD, Athanasiou V, Polizopoulou ZS. D-dimer as a diagnostic tool for canine thromboembolic disorders. *J Hell Vet Med Soc* 2010; 61 (1): 49–56.
30. Ginn JA, Kumar MSA, McKiernan BC, Powers B. Nasopharyngeal turbinates in brachycephalic dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2008; 44 (5): 243–9.
31. Grand J-GR, Bureau S. Structural characteristics of the soft palate and meatus nasopharyngeus in brachycephalic and non-brachycephalic dogs analysed by CT. *J Small Anim Pract* 2011; 52: 232–9.
32. Haimel G, Dupre G. Brachycephalic airway syndrome: a comparative study between pugs and French bulldogs. *J Small Anim Pract* 2015; 56 (12): 714–9.
33. Hedlund CS. Surgery of the upper respiratory system. In: Fossum TW, eds. *Small animal surgery*. 3rd ed. St. Louis : Mosby Elsevier, 2007: 817–66.
34. Hemostasis. In: *EclinPath* [online]. Cornell University College of Veterinary Medicine. <http://eclinpath.com/hemostasis/> (10. 2. 2020)
35. Hendricks JC, Kline LR, Kovalski RJ, O'Brien JA, Morrison AR, Pack AI. The English bulldog: a natural model of sleep-disordered breathing. *J Appl Physiol* 1987; 63 (4): 1344–

50.

36. Hendricks JC, Kovalski RJ, Kline LR. Phasic respiratory muscle patterns and sleep-disordered breathing during rapid eye movement sleep in the English bulldog. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144 (5): 1112–20.
37. Hendricks JC. Brachycephalic airway syndrome. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1992; 22 (5): 1145–53.
38. Hendricks JC, Petrof BJ, Panckeri K, Pack AI. Upper airway dilating muscle hyperactivity during non-rapid eye movement sleep in English bulldogs. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148 (1): 185–94.
39. Hoareau GL, Jourdan G, Mellema M, Verwaerde P. Evaluation of arterial blood gases and arterial blood pressures in brachycephalic dogs. *J Vet Intern Med* 2012; 26 (4): 897–904.
40. Hoareau GL, Mellema M. Pro-coagulant thromboelastographic features in the bulldog. *J Small Anim Pract* 2015; 56 (2): 103–7.
41. Hong SN, Yun HC, Yoo JH, Lee SH. Association between hypercoagulability and severe obstructive sleep apnea. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2017; 143 (10): 996–1002.
42. Kitrell D, Berkwitt L. Hypercoagulability in dogs: pathophysiology. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2012; 34 (4): E1–5.
43. Koch DA, Arnold S, Hubler M, Montavon PM. Brachycephalic syndrome in dogs. *Compend Conti Educ Pract Vet* 2003; 25 (1): 48–55.
44. Lance MD. A general review of major global coagulation assays: thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. *Thromb J* 2015; 13: e1.
doi:10.1186/1477-9560-13-1

45. Liak C, Fitzpatrick M. Coagulability in obstructive sleep apnea. *Can Respir J* 2011; 18 (6): 338–48. doi: 10.1155/2011/924629
46. Liu NC, Troconis EL, Kalmar L, et al. Conformational risk factors of brachycephalic obstructive airway syndrome (BOAS) in pugs, French bulldogs, and bulldogs. *PLoS One* 2017a; 12(8): e0181928. doi: 10.1371/journal.pone.0181928.
47. Liu NC, Oechtering GU, Adams VJ, Kalmar L, Sargan DR, Ladlow JF. Outcomes and prognostic factors of surgical treatments for brachycephalic obstructive airway syndrome in 3 breeds. *Vet Surg* 2017b; 46 (2): 271–80.
48. Lucero R. Brachycephalic breeds and anesthesia. *Vet Tech* 2006; 27 (5): 302–21.
49. MacPhail CM. Surgery of the upper respiratory system. In: Fossum TW, eds. *Small animal surgery*. 4th ed. St. Louis : Mosby, 2013: 909–32.
50. Margaritis P, Roy E, Aljamali MN, et al. Successful treatment of canine hemophilia by continuous expression of canine FVIIa. *Blood* 2009; 113 (16): 3682–9.
51. Martinčič DŠ. Kri. In: Petrovič D, Zorc M. *Histologija: učbenik*. Ljubljana : Inštitut za histologijo in embriologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, 2012: 65–76.
52. Mellema MS, Hoareau GL. Brachycephalic syndrome. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small animal critical care medicine*. 2nd ed. St. Louis : Elsevier, 2014a: 104–6.
53. Mellema MS, Hoareau GL. Hypomagnesemia in brachycephalic dogs. *J Vet Intern Med* 2014b; 28 (5): 1418–23.
54. Meola SD. Brachycephalic airway syndrome. *Top Companion Anim Med* 2013; 28: 91–6.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brachicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

55. Mischke R. Overview of hemostasis. In: Day MJ, Kohn B, eds. BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. 2nd ed. Quedgeley, Gloucester : British Small Animal Veterinary Association, 2012a: 182–8.
56. Mischke R. Hemostasis: diagnostic techniques. In: Day MJ, Kohn B, eds. BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. 2nd ed. Quedgeley, Gloucester : British Small Animal Veterinary Association, 2012b: 189-200.
57. Moritz A, Yvonne F, Meyer K, Failing K, Weiss DJ. Canine and feline hematology reference values for ADVIA 120 hematology system. Vet Clin Pathol 2004; 33 (1): 32–8.
58. Nemec Svete A, Frangež R. Klinična biokemija v veterinarski medicini: učbenik za študente veterinarske medicine. Ljubljana : Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, 2013: 48, 52, 159.
59. Oechtering GU. Brachycephalic syndrome: new information on an old congenital disease. Vet Focus 2010; 2–9.
60. Osman AM, Carter SG, Carberry JC, Eckert DJ. Obstructive sleep apnea: current perspectives. Nat Sci Sleep 2018; 10: 21–34.
61. Packer RMA, Hendricks A, Burn C. Do dog owners perceive the clinical signs related to conformational inherited disorders as ‘normal’ for the breed? A potential constraint to improving canine welfare. Anim Welf 2012; 21(S1): 81–93.
62. Packer RMA, Tivers MS. Strategies for the management and prevention of conformation-related respiratory disorders in brachycephalic dogs. Vet Med 2015; 6: 219–32.
63. Phipps WE, de Laforcade AM, Barton BA, Berg J. Postoperative thrombocytosis and thromboelastographic evidence of hypercoagulability in dogs undergoing splenectomy for splenic masses. J Am Vet Med Assoc 2020; 256 (1): 85–92.

64. Planellas M, Cuenca R, Tabar MD, et al. Evaluation of C-reactive protein, haptoglobin and cardiac troponin 1 levels in brachycephalic dogs with upper airway obstructive syndrome. *BMC Vet Res* 2012; 8: e152. doi: 10.1186/1746-6148-8-152
65. Planellas M, Cuenca R, Tabar MD, et al. Clinical assessment and C-reactive protein (CRP), haptoglobin (Hp), and cardiac troponin I (cTnI) values of brachycephalic dogs with upper airway obstruction before and after surgery. *Can J Vet Res* 2015; 79 (1): 58–63.
66. Podvršnik L, Škrbec M. Psi z brahicefaličnim sindromom: ocena zdravstvenega stanja pred kirurškim zdravljenjem in po njem. Ljubljana : Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, 2019. Prešernova raziskovalna naloga.
67. Poncet CM, Dupre G, Freiche VG, et al. Prevalence of gastrointestinal tract lesions in 73 brachycephalic dogs with upper respiratory syndrome. *J Small Anim Pract* 2005; 46 (6): 273–9.
68. Prosciak M, Stawicki S. Hypercoagulable states: a concise review. *OPUS 12 Sci* 2008; 2 (5): 5–15.
69. Rancan L, Romussi S, Paloma G, Albertini M, Vara E, Sanchez de la Muela M. Assessment of circulating concentrations of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines and nitric oxide in dogs with brachycephalic airway obstructive syndrome. *Am J Vet Res* 2013; 74 (1): 156–60.
70. Reeve EJ, Sutton D, Friend EJ, Warren-Smith CMR. Documenting the prevalence of hiatal hernia and oesophageal abnormalities in brachycephalic dogs using fluoroscopy. *J Small Anim Pract* 2017; 58 (12): 703–8.
71. Riecks TW, Birchard SJ, Stephens JA. Surgical correction of brachycephalic syndrome in dogs: 62 cases (1991–2004). *J Am Vet Med Assoc* 2007; 230 (9): 1324–8.

72. Sanner BM, Fluerebrock N, Kleiber-Imbeck A, Mueller JB, Zidek W. Effect of continuous positive airway pressure therapy on infectious complications in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Respiration* 2001; 68 (5): 483–7. doi: 10.1159/000050555
73. Shaver SL, Barbur LA, Jimenez DA, et al. Evaluation of gastroesophageal reflux in anesthetized dogs with brachycephalic syndrome. *J Am Anim Hosp Assoc* 2017; 53 (1): 24–31.
74. Singh D, Natarajan A, Nand S, Mai HP. Genetics of hypercoagulable and hypocoagulable states. *Neurosurg Clin N Am* 2018; 29 (4): 493–501.
75. Smith SA. Overview of hemostasis. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. *Schalm's veterinary hematology*. 6th ed. Ames : Wiley-Blackwell, 2010: 635–53.
76. Sökücü SN, Ozdemir C, Dalar L, Karasulu L, Aydın S, Altın S. Complete blood count alterations after six months of continuous positive airway pressure treatment in patients with severe obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med* 2014; 10 (8): 873–8.
77. Song J, Drobatz KJ, Silverstein DC. Retrospective evaluation of shortened prothrombin time or activated partial thromboplastin time for the diagnosis of hypercoagulability in dogs: 25 cases (2006–2011). *J Vet Emerg Crit Care* 2016; 26: 398–405.
78. Stegnar M. Prepoznavanje motenj hemostaze z laboratorijskimi metodami. Ljubljana : Klinični oddelek za žilne bolezni, Univerzitetni klinični center, 2005.
79. Stokol T. Essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. *Schalm's veterinary hematology*. 6th ed. Ames : Wiley-Blackwell, 2010: 605–11.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

80. Stokol T, Brooks MB, Erb HN, Mauldin GE. D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation. *Am J Vet Res* 2000; 61 (4): 393–8.
81. Sunnetcioglu A, Karadas S. Mean platelet volume as an indicator of disease in patients with acute pulmonary embolisms. *Eastern J Med* 2014; 19 (2): 107–111.
82. Šuput D. Tromboza in hemoragična diateza. In: Ribarič S, ed. *Temelji patološke fiziologije*. 3. izd. Ljubljana : UL MF Inštitut za patološko fiziologijo, 2014: 150–6.
83. Tanaka R, Murota A, Nagashima Y, Yamane Y. Changes in platelet life span in dogs with mitral valve regurgitation. *J Vet Intern Med* 2002; 16 (4): 446–51. doi: 10.1892/0891-6640(2002)016<0446:ciplsi>2.3.co;2
84. ter Haar G, Sanchez R. Brachycephaly-related diseases. *Vet Focus* 2017; 27 (3): 15–22.
85. Terada S, Koyama T, Watanabe H, et al. Abnormal coagulation and platelet profile in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Cardiol* 2011; 146 (3): 423–5.
86. Toraldo DM, De Benedetto M, Scoditti E, De Nuccio F. Obstructive sleep apnea syndrome: coagulation anomalies and treatment with continuous positive airway pressure. *Sleep Breath* 2016; 20 (2): 457–65.
87. Torrez CV, Hunt GB. Results of surgical correction of abnormalities associated with brachycephalic airway obstruction syndrome in dogs in Australia. *J Small Anim Pract* 2006; 47 (3): 150–4.
88. Trappler M, Moore K. Canine brachycephalic airway syndrome: pathophysiology, diagnosis, and nonsurgical management. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2011a; 33 (5): E1–5.
89. Trappler M, Moore K. Canine brachycephalic airway syndrome: surgical management. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2011b; 33 (5): E1–8.

L. Šparaš, R. Turk: Parametri hemostaze pri psih z brahicefaličnim sindromom pred in po kirurškem posegu, Ljubljana: UL, Veterinarska fakulteta, 2020. Raziskovalna naloga.

90. Uzman V. Primerjava dveh imunokemičnih metod za merjenje koncentracije D-dimera v plazmi. Ljubljana : Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2008. Diplomsko delo.
91. von Känel R, Le DT, Nelesen RA, Mills PJ, Ancoli-Israel S, Dimsdale JE. The hypercoagulable state in sleep apnea is related to comorbid hypertension. *J Hypertens* 2001; 19 (8): 1445–51.
92. Williams JG. Pulmonary hypertension and pulmonary thromboembolism. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*. 8th ed. St. Louis : Elsevier, 2017: 2807–18.
93. Woolcock AD, Keenan A, Cheung C, Christian JA, Moore GE. Thrombocytosis in 715 dogs (2011–15). *J Vet Intern Med* 2017; 31 (6): 1691–9.
94. Wiwanitkit V. Plateletcrit, mean platelet volume, platelet distribution width: its expected values and correlation with parallel red blood cell parameters. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004; 10 (2): 175–8 doi:10.1177/107602960401000208
95. Yousef AM, Alkhiary W. The severity of obstructive sleep apnea syndrome is related to red cell distribution width and hematocrit values. *J Sleep Disord Ther* 2015; 4: e2. doi: 10.4172/2167-0277.1000192
96. Zihlerl K. Motnje dihanja v spanju. In: Košnik M, Štajer D, eds. *Interna medicina*. 5. izd. Ljubljana : Medicinska fakulteta, 2018: 501–6.
97. Zoia A, Drigo M, Piek CJ, et al. Enhanced fibrinolysis detection in a natural occurring canine model with intracavitary effusions: comparison and degree of agreement between thromboelastometry and FDPs, D-dimer and fibrinogen concentrations. *PLoS One* 2019; 14(11): e0225089. doi: 10.1371/journal.pone.0225089