

Prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D., MBA

IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE

**MAXDORF
JESSENIUS**

2 TROMBOCYTY

Trombocyt je krevní element velikosti 1–2 μm , který neobsahuje jádro, ale obsahuje mitochondrie. Cytoplasmatická membrána, která je bohatá na fosfolipidy a která se vchlipuje do buňky a tvoří tak otevřený kanalikulární systém, je velkou aktivní plochou, kde dochází k vazbě a aktivaci plasmatických koagulačních faktorů. Trombocyt se tvoří fragmentací cytoplasmu megakaryocyty, který se diferencuje z původní hematopoetické kmenové buňky. Normální počet trombocytů u dospělého člověka je 150–400 $\times 10^9/\text{l}$. Životnost trombocytu je 7–12 dní, což znamená, že trombocyt po tomto období zaniká v orgánech RES, především ve slezině. Trombocyt vlastně nemá žádnou aktivní funkci v krevním oběhu, má být v pohotovosti a reagovat pouze ve chvíli, kdy je nutno aktivovat hemostatický systém. Pokud dojde k narušení celistvosti povrchu cévy, dochází řádově v mikrosekundách k aktivaci trombocytů s jejich morfoloogickými a nitrobuňčnými chemickými změnami, tvorbě agregátů trombocytů ve snaze uchovat celistvost cévního systému a k tvorbě trombu.

Na rozdíl od ostatních krevních elementů, které obsahují granula a mají spíše sférický tvar (lymfocyty, monocyty, granulocyty) mají trombocyty charakteristický vzhled bližší spíše erytrocytu. Nemají však bikonkávní tvar, ale plochý, vpravdě diskovitý vzhled s oválným průřezem. Při zobrazení trombocytu pomocí elektronového mikroskopu však vidíme, že membrána destičky je často přerušována póry, které jsou vyústěním otevřeného kanalikulárního systému (viz níže). Elektronový mikroskop navíc zobrazuje povrch trombocytu nikoliv jako hladký s póry, ale s gyrifikací obdobnou povrchu mozku, což je také významný rozdíl oproti erytrocytu nebo leukocyту.

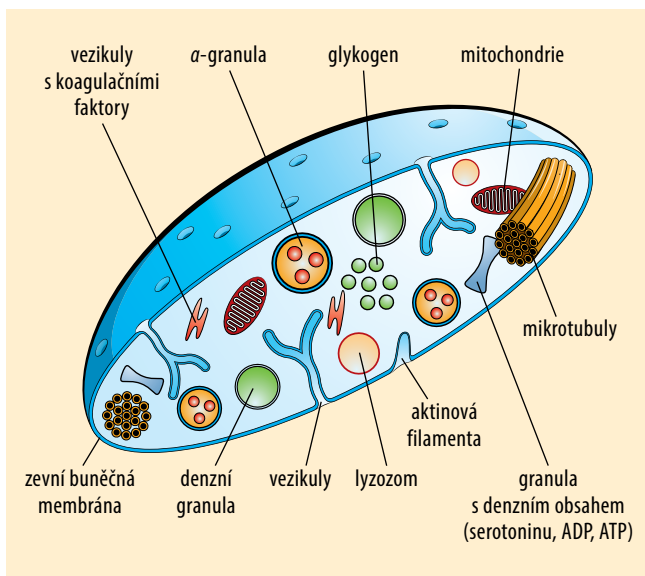
Struktura trombocytu má v zásadě tři morfoloogické a funkční oblasti. Periferní zóna se skládá z tzv. externího a interního

■ **Tabulka 2.1** Obsah trombocytárních granul

α -granula obsahují: fibrinogen, von Willebrandův faktor (vWF), fibronektin, faktor V, destičkový faktor 4, β -tromboglobulin, trombospondin, destičkový růstový faktor (PDGF – platelet derived growth factor). Deficit: „ α storage pool deficiency diseases“ (např. syndrom šedivých destiček)

denzní granula obsahují: serotonin (5-HT), kalcium, tzv. nemetabolický adenosindifosfát, adenosintrifosfát (ADP, ATP). Nedostatek denzních granul: „ δ storage pool deficiency diseases“ (syndromy Heřmanského-Pudlákův, Chédiakův-Higashiův a Wiskottův-Aldrichův)

membránového systému, který má řadu funkcí, jednou z nich je vytváření aktivního povrchu pro plasmatický koagulační systém. Zevní membrána periferní zóny je bohatá na glykoproteiny, mezi něž patří řada receptorů potřebných k aktivaci trombocytu a molekuly, které se podílejí na adhezi a agregaci trombocytů. Nejvíce zastoupeny jsou glykoproteiny (GP) Ia, Ib, Ic, IIb, IIIa, IV, V, VI a IX. Vnitřní membrána vytváří mnohočetným složitým vchlípením dovnitř buňky složitý a povrchem rozsáhlý otevřený kanikulární systém (OCS), který ústí na povrchu trombocytu a je spojen se zevní membránou. Součástí vnitřní membrány je také tzv. denzní tubulární systém (DTS), který je reziduem hladkého endoplasmatického retikula megakaryocytu. Denzní tubulární systém je místem, kde probíhá metabolismus kyseliny arachidonové a syntetizují se prostaglandiny. Střední vrstva (mezivrstva) periferní zóny představuje povrch s asymetricky uloženými fosfolipidy důležitý pro aktivaci koagulačního systému. Současně jde o místo předávání signálu ke změně tvaru a chemických pochodů do nitra buňky. Cytoplasma trombocytu je tvořena matrix (sol-gel), fibrilami v různém stadiu polymerace, které zajišťují diskoidní tvar trombocytu a kontrakci při změně tvaru trombocytu a tvorbě pseudopodií a vnitřní kontrakci potřebnou k exkreci z granul. Kontraktilní fibrilární systém trombocytu je mohutný a tvoří zhruba polovinu celkových proteinů trombocytu. Třetí funkční zóna trombocytu je zóna organelová. K organelám patří granula (α -granula), denzní granula,

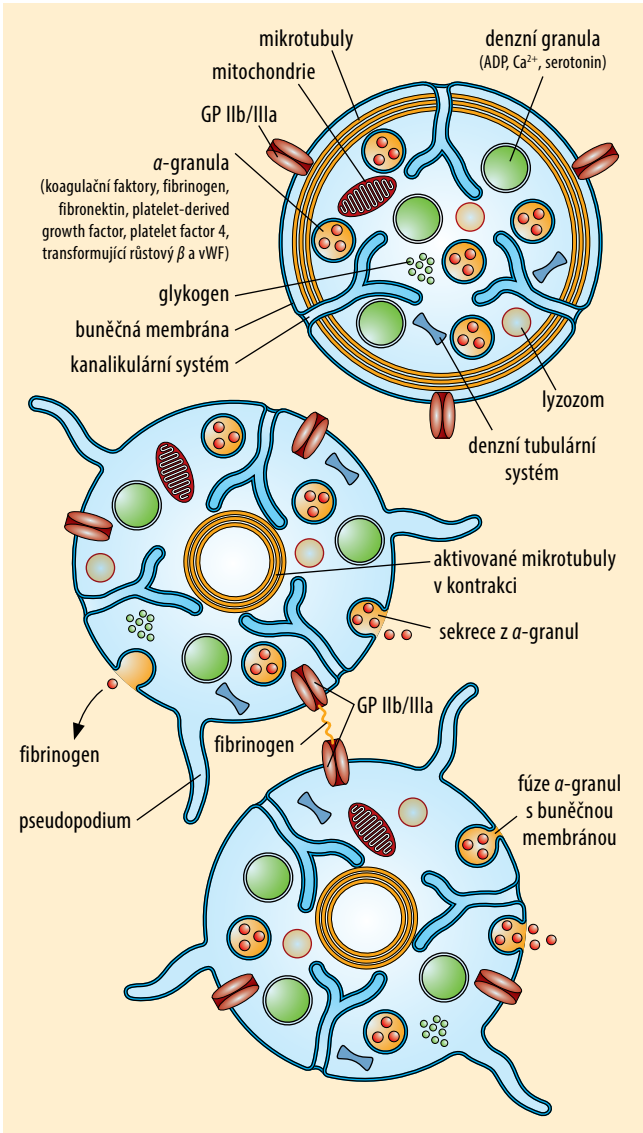


Obr. 2.1 Třírozměrná struktura trombocytu

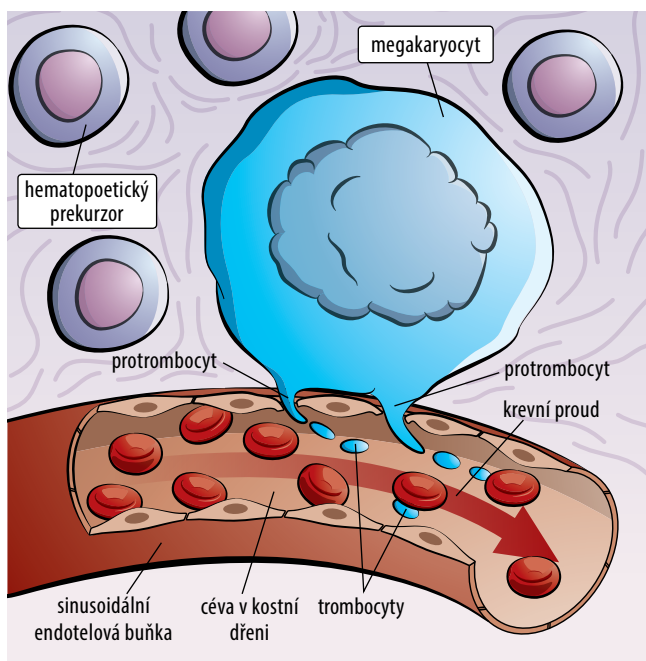
peroxizomy, lyzozomy, glykozomy a mitochondrie. Orgány jsou neuspořádaně disperzně rozloženy v cytoplasmě trombocytu, slouží zejména jako místo metabolismu trombocytu a uložení enzymů, nemetabolických nukleosidfosfátů, serotoninu, kalcia a dalších látek (tab. 2.1, obr. 2.1–2.3).

K tomu, aby trombocyt mohl naplňovat svou základní, hemostatickou funkci, je na povrchu vybaven řadou receptorů, které signalizují typ reakce na vnější podnět. Trombocyt je na povrchu vybaven až přebytkem receptorů různé struktury, jejichž funkce se dosti překrývá. Receptory jsou integrinové i neintegrinové povahy.

Zachycení trombocytu k proteinům extracelulární matrix je zprostředkováno např. receptory pro fibronektin nebo laminin, tedy integriny. Integrinové receptory jsou heterodimery s podjednotkami α a β tvořící komplexy (např. GP IIb/IIIa). Některé z nich se objevují až po počáteční aktivaci trombocytu.



Obr. 2.2 Schéma jednotlivých struktur trombocytu a jejich dynamika



Obr. 2.3 Protrombocyt a trombocyt v kostní dřeni

Hlavním destičkovým integrinem je glykoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), na povrchu trombocytu je zhruba 80 000 molekul GP IIb/IIIa. Tento receptorový komplex však není exprimován, dokud nedojde k aktivaci trombocytu, ať již humorálně, nebo kontaktem s aktivujícím povrchem. Mezi neintegrinové receptory patří komplex receptorů GP Ib/IX (tab. 2.2).

V trombocytu jsou aktivní enzymy cyklooxygenáza a fosfolipáza. Výsledkem aktivity cyklooxygenázy v metabolismu kyseliny arachidonové je produkce prostaglandinů, zejména tromboxanu A_2 , který podporuje vazokonstrikci a agregaci trombocytů. Největší metabolická aktivita kyseliny arachidonové probíhá v oblasti denzního tubulárního systému.

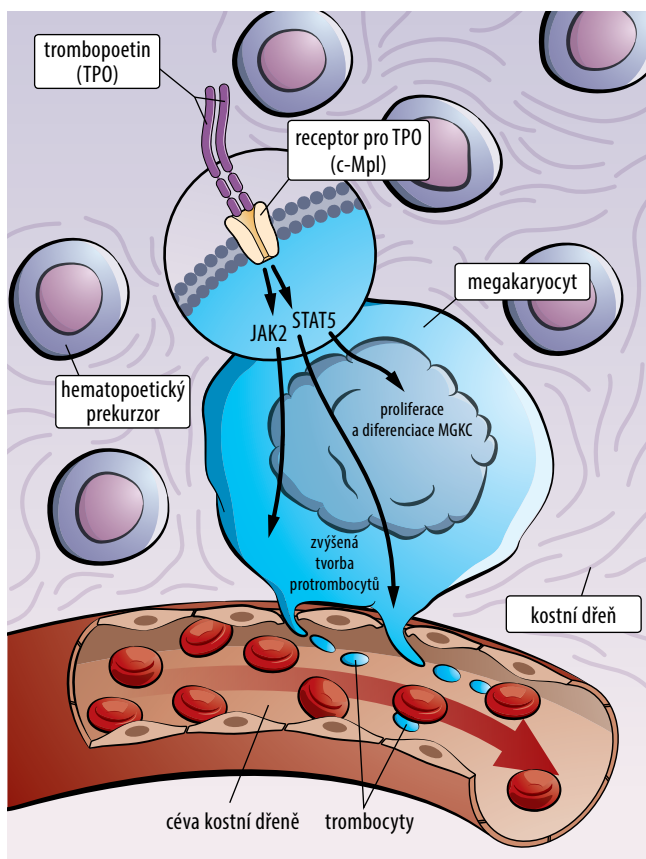
Trombocyt se dostává do oběhu po odštěpení z cytoplasmy megakaryocytu v kostní dřeni. Megakaryocyt je největším

■ **Tabulka 2.2** Přehled nejdůležitějších integrinových a neintegrinových receptorů

- GP Ib: receptor pro vWF
- GP IIb/IIIa: nejdůležitější integrinový receptor, receptor pro solubilní fibrinogen, fibronektin a vitronektin. Silný proagregační potenciál, ale objevuje se na povrchu trombocytu až po počáteční aktivaci. Defekt se projevuje jako tzv. Glanzmannova trombastenie
- GP VI: receptor pro kolagen
- GP Ib/IX: často tvoří komplex GP Ib-IX-V, jde mimo jiné o receptor pro vWF. Nejdůležitější receptor destičkové adheze. Jeho defekt je podstatou krvácivého Bernardova-Soulierova syndromu

hematopoetickým elementem odlišitelným v kostní dřeni. Proliferace a diferenciacie megakaryocytu, jakož i uvolňování trombocytů, je řízeno trombopoetinem, který je produkován zejména jaterní buňkou (obr. 2.4). Normální počet trombocytů v krvi člověka je $140\text{--}400 \times 10^9/\text{l}$. Zralý trombocyt cirkuluje 7–10 dní, poté, pokud není spotřebován při tvorbě trombu, zaniká v RES. Fyziologicky menší počet je u novorozenců a také u některých etnik na jihu Evropy a na Středním východě.

Trombocyty tvoří při procesu srážení krve bezprostřední první reakci na daný podnět: primární (destičkový) trombus. Didakticky rozeznáváme dvě fáze tohoto děje: fázi adheze a fázi agregace. Adheze je zahájena při prvním poškození endotelu odhalením oligomerů von Willebrandova faktoru (vWF), který je uchycen na endotelové buňce, a jeho receptorem na trombocytu je zejména glykoprotein Ib (GP Ib). Agregace je následně způsobena kontaktem trombocytu s kolagenem cévní stěny a umocněna uvolněním substancí z aktivovaných trombocytů: ADP, tromboxanu A_2 . Od začátku jsou v místě se nacházející trombocyty aktivovány. Kromě uvolnění proagregačních substancí poskytují svůj fosfolipidový povrch také k aktivaci plasmatického koagulačního systému (viz dále).



Obr. 2.4 Vliv trombopoetinu na megakaryocyt, buněčná úroveň

2.1 MEGAKARYOCYT, TVORBA TROMBOCYTŮ A JEJÍ REGULACE

Trombocyty jsou odštěpky cytoplasmu megakaryocytů, které jsou po narození za fyziologických okolností v kostní dřeni, ale také v cévách plic. Megakaryocyt je největším a zároveň nejméně početným hematopoetickým elementem hemato-

poetické kostní dřeni. Je výsledným elementem diferenciacce hematopoetické kmenové buňky, jež není morfologicky odlišitelná od lymfocytu. První morfologicky odlišitelný je promegakaryoblast, z něhož se diferencují tetraploidní megakaryoblasty a následně velké polyploidní promegakaryocyty a megakaryocyty. Zralý megakaryocyt je v kostní dřeni velmi těžko zaměnitelný s jiným elementem díky svému velkému rozměru (obvykle kolem 150 μm) a lobulizaci jádra. Důvodem polyploidizace megakaryocyty je zřejmě nutnost neustálé syntézy velkého množství proteinů – k produkci a odštěpování trombocytů. V průběhu života se také tato schopnost mění. U fetálních megakaryocytů a u megakaryocytů novorozenců je vystupňovaná schopnost proliferace, ale menší intenzita lobulizace jádra, a zřejmě proto je také menší schopnost tvořit a odštěpovat trombocyty než v dospělém věku. Všechny prekurzory megakaryocyty vykazují pozitivitu povrchového markeru CD41 (GP IIb). Trombocyt se odštěpuje ve formě protrombocytu prostřednictvím tzv. demarkačního membránového systému (DMS). Tento proces ještě není dostatečně detailně prozkoumán, začíná však vždy reorganizací aktinu a tubulinu ve skeletu megakaryocyty s tím, že se tubulin přesunuje výrazně na periferii cytoplasmy megakaryocyty. Tím vznikají pseudopodie vyplněné smyčkami tubulinu a do takového místa se aktivně přemisťují a akumulují cytoplasmatická granula a další specifické orgány. Po odštěpení se protrombocyt uvolňuje do cirkulace a prodělává další změny, které jsou završeny rozdělením na definitivní trombocyt. Po objevení megakaryocytů v plicní tkáni (drobných plicních cévách) se dlouhou dobu uvažovalo o tom, že proces uvolňování trombocytů z megakaryocyty probíhá právě zde a megakaryocyty právě proto z kostní dřeni do plic cestují. V současnosti se zdá, že původní představa, tedy že hlavní část procesu odštěpování trombocytů z megakaryocyty probíhá v kostní dřeni, je správná.

Megakaryocyty jsou zjištěitelné v kostní dřeni často ve skupinkách v různých stádiích maturace. Vedle sebe jsou malé menší elementy s málo lobulovaným jádrem, stejně jako

starší obrovské polyploidní megakaryocyty. O regulaci vývoje megakaryocyty je obecně zatím málo informací. Jisté je, že na vývoji a tvorbě megakaryocyty se podílí řada intracelulárních a extracelulárních signálů a že důležitou roli zde má mikroprostředí kostní dřeně, zejména makrofágy.

Intracelulární signální dráhy ovlivňující proliferaci a diferenciaci megakaryocyty zahrnují zejména dráhy transkripčních faktorů GATA-1, FOG-1, NF-E2 aj. Zdá se, že transkripční faktor GATA-1 je nejdůležitějším faktorem, který jednak reguluje proliferaci megakaryocyty, jednak akceleruje diferenciaci, a tedy polyploidizaci buňky. Naopak transkripční faktor NF-E2 je patrně nejdůležitějším regulátorem tvorby a odštěpování destiček.

Megakaryocyt je velmi flexibilní a pohyblivý element, který dynamicky komunikuje přímým dotykem s endotelovými buňkami a fibrilami kolagenu. Megakaryocyt obsahuje a uvolňuje mitogenní faktory pro endotelové buňky (VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor), endotelové buňky naopak exprimují receptory a adhezni molekuly, které mohou megakaryocyt udržet v blízkosti krevního proudu, kam jsou uvolňovány trombocyty. Nahromadění většího množství megakaryocytů v těchto místech potom může mít za následek i obtížný vstup do krevního proudu a výstup z něho pro další krevní elementy. To lze pozorovat např. u syndromu myelofibrózy. Přímá komunikace megakaryocyty s fibrilami kolagenu probíhá také zajímavým způsobem: zjistilo se, že složení fibril kolagenu typu I, jejich napětí a rigidita mají základní roli v regulaci kontraktility cytoskeletu megakaryocyty a také regulují odštěpování trombocytů.

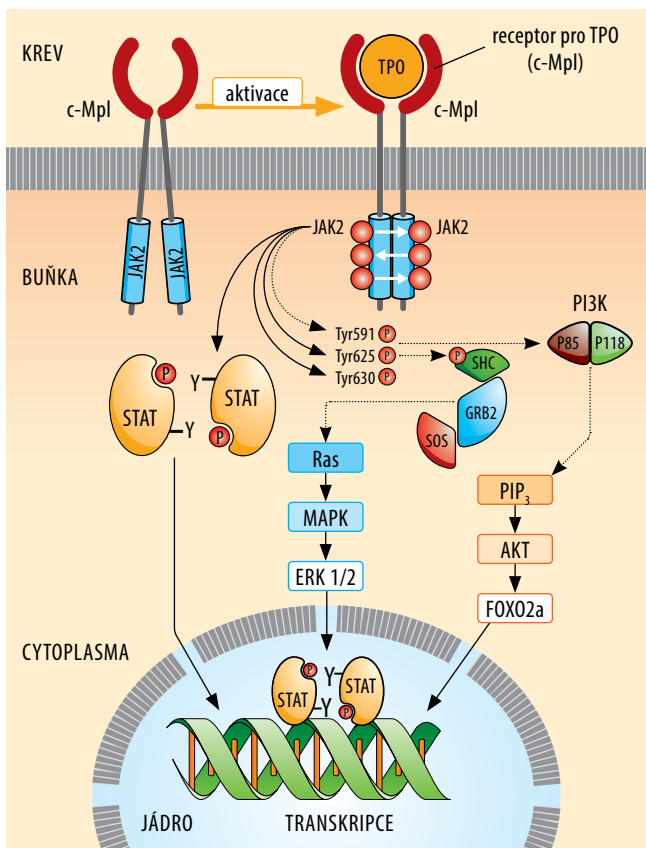
Dalšími regulačními prvky trombopoézy jsou zcela jistě humorální podněty zprostředkované cytokiny. Ty jsou produkovány jednak buňkami stromatu mikroprostředí kostní dřeně, jednak vzdálenými tkáněmi. Buněčná část mikroprostředí kostní dřeně je tvořena buňkami odvozenými od hematopoetické kmenové buňky, zejména makrofágy a buňkami stromatu (endotelové buňky, adipocyty, chondrocyty a buňky kostní tkáně). Buňky stromatu kostní dřeně produkují a uvolňují

v rámci tzv. parakrinní stimulace cytokiny, které podporují proliferaci a diferenciaci makrofágů. Jsou to zejména trombopoetin, destičkový faktor 4, chemokiny CXCL-7 a NAP-2. Důležitou roli v regulaci trombopoézy mají pravděpodobně makrofágy. V klidovém stavu produkují a uvolňují růstové faktory, které podporují proliferaci a diferenciaci megakaryocyty (GM-CSF, GRO), po aktivaci (např. v případě infekce) naopak produkují velké množství trombopoézu suprimujících faktorů, jako jsou $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 . Nejdůležitějším regulátorem uvolňovaným z makrofágu je IL-8 , který má silný supresivní efekt na trombopoézu.

2.2 TROMBOPOETIN

Trombopoetin (TPO) je hlavním regulačním růstovým faktorem trombopoézy. Podporuje proliferaci, ale také diferenciaci a maturaci megakaryocyty. Má pravděpodobně také důležitou roli při demarkaci a fragmentaci cytoplasmu megakaryocyty, ale tato role ještě není detailně zmapována. Vazba TPO na trombocyt vede ke spuštění signálních drah s aktivací proteinů, tzv. Janus signální dráhy (JAK2 , Tyk2 atd.) a k aktivaci transkripce cestou STAT3 a STAT5 (obr. 2.5). Kromě megakaryocytární řady má TPO stimulační vliv také na další krevní řady a je prokázán jeho synergický efekt s erythropoetinem na proliferaci a diferenciaci v červené krevní řadě.

Objevu trombopoetinu předcházel objev jeho receptoru c-Mpl , který je ve velkém množství přítomen na megakaryocytech, trombocytech, nezralých hematopoetických progenitorech ($\text{CD34+}/\text{CD38-}$), v malém množství je přítomen na endotelových buňkách. Receptor c-Mpl není přítomen na jiných hematopoetických buňkách, pouze na elementech megakaryopoézy. V roce 1994 byl několika nezávislými týmy popsán ligand c-Mpl , tedy trombopoetin. Trombopoetin je protein o velikosti 80 kDa s dvěma oddělenými doménami. N-konec je biologicky aktivní doména složená ze 153



Obr. 2.5 Schéma signálních cest po aktivaci trombopoetivového receptoru megakaryocyty. Po vazbě trombopoetinu (TPO) na receptor c-Mpl se většina signalizace proliferace megakaryocyty odehrává prostřednictvím JAK/STAT, diferenciace pak JAK/MAPK. Vazbou TPO na receptor dochází k homodimerizaci receptorové molekuly a následně k fosforylaci tyrosinu molekuly JAK2 (Janus kinase 2) a aktivaci JAK2. Ta poté aktivuje řadu substrátů, zejména STAT 1 (signal transducers and activators), STAT 3 a STAT 5, a několik tzv. adaptérových proteinů (např. SHC, Raf1), MAPK (mitogen-activated protein kinase), ERK (extracellular signal regulated kinase) a PI3K (phosphatidyinositol-3 kinase). Po fosforylaci tvoří molekuly STAT 3 a 5 komplex, přesunují se do jádra, kde na specifických vazebných místech aktivují genovou transkripci a proliferaci. Paralelní aktivace cesty Ras-MAPK a ERK spolu s nezávislou aktivací cesty PIP₃-FOXO2a vedou také ke zvýšené transkripční aktivitě, spíše směrem k diferenciaci megakaryocyty

aminokyselin s 50% homologií k erythropoetinu (EPO-like doména). Glykosylovaný C-konec nemá společnou strukturu s žádným cytokinem, předpokládá se však, že tato část má v době uvolňování proteinu důležitou roli v jeho ochraně před destrukcí. TPO je syntetizován zejména v játrech, menší množství je produkováno buňkami stromatu kostní dřene a také slezinou. Stále není zcela vyřešena otázka, zda trombopoezu reguluje systémový (jaterní) trombopoetin, nebo je v období zvýšené potřeby produkce destiček nejdůležitější parakrinní sekrece trombopoetinu buňkami stromatu kostní dřene. Ta byla delší dobu považována za klíčovou, zejména v době, kdy bylo potvrzeno, že např. transformující růstový faktor beta (TGF β), cytokin hojně obsažený v trombocytech, má inhibiční vliv na produkci TPO makrofágy v kostní dřeni. Nové zkušenosti se systémovou léčbou analogy trombopoetinu však spíše dávají za pravdu teorii o klíčové roli systémového trombopoetinu.

Mezi další cytokiny, které pozitivně regulují megakaryopoezu a produkci destiček, patří zejména GM-CSF (granulocytární monocytární růstový faktor) a interleukiny 3, 6 a 11 (IL-3, IL-6, IL-11). Rekombinantní IL-11 byl dokonce v klinickém použití.

Mezi tzv. negativní regulátory trombopoезy, tedy cytokiny a látky, které proliferaci a diferenciaci megakaryocyty inhibují, patří zejména již zmíněný TGF β , destičkový faktor 4 (PF-4) a sám trombin.

LITERATURA

1. Avecilla ST, Hattori K, Heissig B, et al. Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. *Nat Med.* 2004;10:64–71.
2. deSautage FJ, Hass PE, Spencer SD, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature.* 1994;369:533–8.
3. Kaushansky K. Historical review: megakaryopoiesis and thrombopoiesis. *Blood.* 2008;111:981–6.
4. Kaushansky K. Molecular mechanism of thrombopoietin signaling. *J Thromb Haemost.* 2009;7:235–8.

3 TROMBOCYTOPENIE

Trombocytopenie je jednou z nejčastějších laboratorních abnormalit, s níž se setkávají praktičtí lékaři, a protože většinou není příčina trombocytopenie zjevná, jde o jeden z nejčastějších důvodů, proč praktický lékař odesílá pacienta k odbornému hematologickému vyšetření, a jednu z nejčastějších otázek, kterou hematolog ve své ambulanci řeší.

První otázkou, kterou si v případě trombocytopenie musíme položit, je, co je trombocytopenie. Jak již bylo dříve uvedeno, normální počet trombocytů je v rozmezí 150 až $400 \times 10^9/l$, v některých laboratořích je však normální interval rozšířen např. na $135 \times 10^9/l$ a horní limit až k $450 \times 10^9/l$. Průměrný počet trombocytů pro muže je $237 \times 10^9/l$ a pro ženy $266 \times 10^9/l$. Je nutné si uvědomit, že zhruba 2,5 % světové populace má počet trombocytů vrozeně nižší, než je udávaný spodní limit normálního rozmezí. Trombocytopenie se klinicky projevuje obvykle až při poklesu pod $100 \times 10^9/l$, ale většinou až při mnohem větším poklesu. Při počtu pod $50 \times 10^9/l$ stoupá riziko nepřiměřeného krvácení při chirurgickém zákroku a při poklesu pod $20 \times 10^9/l$ je vyšší riziko krvácení spontánního. To vše za předpokladu normální funkce reziduálních trombocytů. Na druhé straně je třeba také sledovat dynamiku počtu trombocytů. Náhlý pokles počtu trombocytů na 50 % původní hodnoty, ale ještě ne pod spodní hranici normy nebo pod $100 \times 10^9/l$, může signalizovat závažný stav nebo být zcela nevýznamnou odchylkou. Imunitní trombocytopenie je nyní definována jako počet trombocytů pod $100 \times 10^9/l$.

Při hledání odpovědi na otázku o příčině zjištěné trombocytopenie máme v podstatě několik možností, kde najít mechanismus vzniku trombocytopenie. V některých případech může přitom jít o kombinaci těchto mechanismů:

1. jde o zdánlivou trombocytopenii (pseudotrombocytopenii)

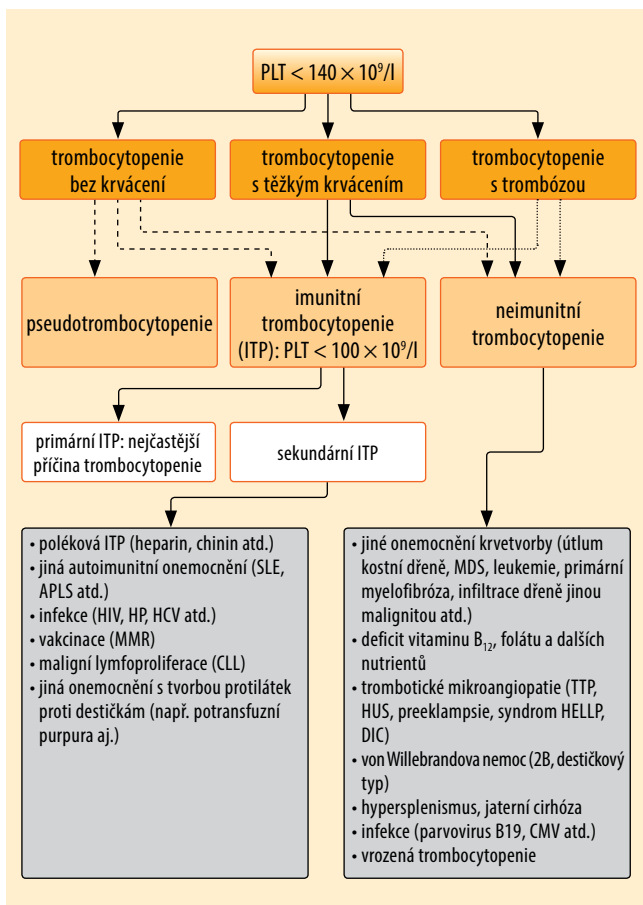
2. jde o zvýšené skladování trombocytů mimo periferní krev (tzv. distribuční trombocytopenie)
3. jde o zředění krve (diluční trombocytopenie)
4. jde o zvýšenou konzumpci trombocytů
5. jde o sníženou tvorbu trombocytů v kostní dřeni
6. jde o zvýšenou destrukci trombocytů v periférii

Navrhnout univerzální algoritmus k vyšetření pacienta s trombocytopenií pro zjištění etiologie je složité, nicméně je možné postupovat např. podle algoritmu uvedeného na obrázku 3.1. Při posuzování otázky etiologie trombocytopenie u konkrétního pacienta je důležité mít na mysli také jedno ze základních rozdělení chorob obecně: na časté a vzácné. V praxi se racionální postup odvíjí samozřejmě nejprve od správně provedené cílené anamnézy a také od dané klinické situace. Jinak budeme zaměřovat další vyšetření u pacientky v posledním trimestru těhotenství s těžkou trombocytopenií a známkami preeklampsie, jinak u pacienta na jednotce intenzivní péče s poruchou vědomí, selháním ledvin, trombocytopenií a hemolýzou a jinak budeme plánovat vyšetření u zcela asymptomatického ambulantního pacienta, který přichází k vyšetření pro náhodně objevenou trombocytopenii.

Diagnosticky nejobtížnější a výzvou pro každého hematologa je v praxi většinou právě poslední případ: ambulantní pacient v celkově dobrém stavu s izolovanou trombocytopenií.

V *rodinné anamnéze* se soustředíme na:

- rodinnou zátěž krevními chorobami, včetně krvácivých a trombotických onemocnění, a snažíme se najít event. stopy např. směrem k von Willebrandově chorobě (typ 2B), familiární trombocytopenii, event. autoimunitním chorobám typu primární imunitní trombocytopenie (ITP), antifosfolipidového syndromu (APLS), k systémovému lupus erythematoses a jiným systémovým chorobám s autoimunitní patogenezi, pátráme po tyreopatiích. Při vyšetření pacienta máme také na paměti, že některá černošská a asijská etnika mají fyziologicky nižší počet trombocytů, než je norma většiny automatických analyzátorů



Obr. 3.1 Diferenciální diagnóza a směr vyšetření u nově zjištěné trombocytopenie. SLE – systémový lupus erythematoses, APLS – antifosfolipidový syndrom, HIV – virus lidského imunodeficitu, HP – helicobacter, HCV – virus hepatitidy C, MMR – spalničky, příušnice, zarděnky, CLL – chronická lymfocytární leukemie, MDS – myelodysplastický syndrom, TTP – trombotická trombocytopenická purpura, HUS – hemolyticko-uremický syndrom, HELLP – hemolysis elevated liver enzymes, low platelets, CMV – cytomegalovirus

V *osobní anamnéze* pátráme zejména po:

- neobvyklých krvácivých epizodách, např. po obtížně stavitelných krváceních při chirurgických zákrocích nebo neadekvátně malých traumatech, po spontánních krváceních včetně snadné tvorby kožních hematomů a erupcí petechií, enteroragii, meléne, makroskopické hematurii. Stejně jako se zaměřujeme na krvácivé příhody, pátráme u trombocytopenického pacienta v anamnéze po výskytu event. trombotických onemocnění ve venózní i arteriální oblasti
- prodělaných předchozích infekcích, včetně infekční mononukleózy, infekční hepatitidy, ale evidujeme také recentní „banální“ respirační infekce a vakcinace. Snažíme se citlivě zjistit pacientovu sexuální orientaci a možnost event. rizikového sexuálního chování, stejně jako užívání návykových látek
- údajích v rámci tzv. geografické anamnézy a možné souvislosti trombocytopenie s některým importovaným vzácným infekčním onemocněním
- neobvykle silném krvácení u žen při menarche a následných menstruacích, okolnostech provázejících porod a zejména po spontánních potratech v minulosti
- prodělaných nebo probíhajících onemocněních jaterních, ledvinných, onemocněních kardiovaskulárního aparátu a gastrointestinálního traktu včetně event. onemocnění vázaných na přítomnost *Helicobacter pylori*, nádorových onemocněních, chirurgických zákrocích a transfuzích krevních přípravků v minulosti
- alergických reakcích, zejména na léky a léčivé přípravky

Ve *farmakologické anamnéze*, která je v současnosti jednou z nejdůležitějších složek anamnézy u trombocytopenického pacienta, se snažíme samozřejmě najít souvislost s trombocytopenií a užíváním konkrétních léků. Protože seznam léků, které mohou potenciálně způsobit trombocytopenii, je velmi dlouhý, snažíme se dokumentovat pacientovu recentní medikaci a soustředit se na ty přípravky, u nichž je trombocytopenie udávána jako relativně častý nežádoucí účinek. Nikdy to však nevylučuje, že můžeme být svědky

vzácného vedlejšího účinku některého z přípravků, u nichž trombocytopenie oblgátně popisována není.

U pacientů na antikoagulační terapii heparinem, ať již frakcionovaným, nebo nefrakcionovaným, evidujeme zejména časovou souvislost mezi nasazením těchto přípravků a vznikem trombocytopenie (viz odd. HIT). Podrobněji viz odd. 3.7 Polékové imunitní trombocytopenie.

Při *fyzikálním vyšetření* trombocytopenického pacienta se soustředíme na viditelné známky hemoragické diatézy, zejména drobná tečkovitá kožní krvácení (petechie), rozsáhlejší krvácení typu sufuzí a slizničních ekchymóz, hematomů. Pátráme po známkách krvácení do GIT (meléna, enteroragie, hematemeza, hemoptýza) a urogenitálního traktu (hematurie, hypermenorea atd.). Klinicky zjevná jsou krvácení do centrálního nervového systému nebo oka. Fyzikální vyšetření pacienta nás může upozornit na jednu z nejčastějších příčin trombocytopenie: chronické postižení jater (konzistence a velikost jater, velikost sleziny atd.), stejně jako na probíhající myeloproliferativní nebo lymfoproliferativní maligní, dosud nedignostikované onemocnění (extrémní splenomegalie u primární myelofibrózy, generalizovaná lymfadenopatie u chronické lymfocytární leukemie atd.).

Z *laboratorních a zobrazovacích vyšetření* máme dnes k dispozici celou plejádu více či méně sofistikovaných vyšetření, která se snažíme indikovat racionálně s ohledem na zjištění z anamnézy a fyzikálního vyšetření a snažíme se jim nepodrobovat pacienty zbytečně. Nicméně je nutno zdůraznit, že například imunitní trombocytopenie (ITP) je jednou z nejčastějších příčin trombocytopenie a zároveň je stále diagnózou *per exclusionem*, tedy k jejímu určení je nutné vyloučit ostatní časté příčiny trombocytopenie.

V každém případě je nutné, abychom zejména tam, kde je trombocytopenie nečekaným izolovaným nálezem neodpovídajícím klinickému obrazu, indikovali kontrolní vyšetření ve zkumavce s jiným antikoagulačním činidlem než EDTA, a tedy abychom vyloučili pseudotrombocytopenii (viz níže). Pokud jde o skutečnou trombocytopenii, je nutné, aby

hematolog prohlédl nátěr periferní krve pod mikroskopem, kde je nutné posuzovat zejména velikost trombocytů, velikost a morfologické abnormality erytrocytů, zaměřit se na přítomnost schistocytů, pátrat po morfologických abnormalitách lymfocytů a neutrofilních segmentů. Samozřejmostí je, že i u ambulantně vyšetřované trombocytopenie indikujeme koagulační screening zaměřený jak na vnější, tak na vnitřní cestu a fibrinolytickou aktivitu (PT, aPTT, fibrinogen, D-dimery).

K základům vyšetření nově izolované trombocytopenie patří sérologické vyšetření na virovou hepatitidu B a C, virus Epstein-Barr (EBV) a cytomegalovirus (CMV) a zejména HIV. U pacientů, u nichž je podle klinického průběhu a anamnézy velmi pravděpodobná ITP, indikujeme také vyšetření na *Helicobacter pylori* (průkaz antigenu ve stolici nebo ureázový dechový test).

Samozřejmostí při vyšetření trombocytopenie je kompletní vyšetření jaterního souboru a ledvinných funkcí, které může poukázat na příčinu trombocytopenie. Z laboratorních testů je to sérologický screening na zánětlivá onemocnění pojiva typu systémového lupus erythematosus, revmatoidní artritidy apod. (např. ANA, revmatoidní faktor atd.).

Každá trombocytopenie, především pokud je v anamnéze těhotenská komplikace, zejména samovolný potrat, popř. arteriální nebo venózní trombóza, nás musí vést k indikaci vyšetření antikardiolipinových protilátek a inhibitorů typu lupus anticoagulans.

Zobrazovací vyšetření typu abdominální ultrasonografie, počítačové tomografie atd. jsou indikována zejména tam, kde vylučujeme souvislost trombocytopenie s jiným onemocněním, např. se závažným postižením jater, anebo v případech podezření na maligní onemocnění.

Vyšetření kostní dřeně je u trombocytopenie indikováno zejména tehdy, není-li vysvětlení trombocytopenie jiné, než primárně hematologické. Zejména tam, kde jsou ještě další abnormality v krevním obrazu, indikujeme jak histologické, tak cytologické vyšetření kostní dřeně. Jak bude podrobně-

ji probráno u vlastní imunitní trombocytopenie, u pacientů s izolovanou trombocytopenií toto vyšetření standardně indikujeme ve věkové kategorii nad 60 let, protože u této skupiny pacientů stoupá incidence myelodysplastického syndromu (MDS).

3.1 PSEUDOTROMBOCYTOPENIE

Jde o případ, kdy je počet trombocytů falešně snížený, vzniklý abnormální reakcí krevních elementů na podmínky *in vitro* – ve zkumavce, po odběru krve k vyšetření na hematologickém analyzátoru.

- Tento fenomén může vzniknout v případě, kdy je použito neadekvátní antikoagulační médium a ve zkumavce vznikají trombinem indukované shluky trombocytů. V tom případě může dojít k tomu, že tyto shluky jsou falešně vyhodnoceny analyzátozem jako leukocyty a vlastních trombocytů se zjistí méně. Výsledkem je lehká neočekávaná leukocytóza a trombocytopenie.
- Vzácně může být trombocytopenie způsobena spontánní tvorbou rozet trombocytů kolem neutrofilů, monocytů nebo do krve uvolněných lymfomových buněk. Tento efekt se označuje jako destičkový satelitismus. Byly dokonce detekovány protilátky proti destičkovému receptoru GP IIb/IIIa, které v přítomnosti antikoagulačního agens EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina) reagují jak s receptorem GP IIb/IIIa, tak s Fc receptorem neutrofilu.
- Pseudotrombocytopenie byla popsána také po aplikaci abciximabu, myší monoklonální protilátky namířené proti receptoru GP IIb/IIIa a používané jako antiagregační látka v případě perkutánní koronární intervence a k léčbě nestabilní anginy pectoris.
- Asi nejčastější příčinou falešné trombocytopenie – pseudotrombocytopenie – je přítomnost přirozených protilátek, které reagují s destičkami pouze v přítomnosti

EDTA při pokojové teplotě. Vytvořené shluky jsou potom analyzátorem detekovány buďto jako leukocyty, nebo nečistota, výsledný počet trombocytů je nízký. Tento laboratorní artefakt lze pozorovat zhruba u 0,1 % vzorků. Většina protilátek je typu IgG, vzácně IgM. Podezření na pseudotrombocytopenii je vždy nutné mít při neočekávaně nízké hodnotě trombocytů bez klinických příznaků. K potvrzení pseudotrombocytopenie je nutné provést vyšetření nátěru krve s potvrzením shluků trombocytů a vyšetření s jiným antikoagulačním roztokem na bázi heparinu nebo citrátu sodného.

3.2 TROMBOCYTOPENIE ZE ZVÝŠENÉHO SKLADOVÁNÍ TROMBOCYTŮ MIMO PERIFERNÍ KREV (DISTRIBUČNÍ TROMBOCYTOPENIE)

Za normálních okolností je asi jedna třetina trombocytů uvolněných z kostní dřeně do periferní krve skladována ve slezině (tzv. sekvestrace). Tento zásobní pool trombocytů je v dynamické rovnováze s trombocyty, které cirkulují v periferní krvi. Za patologických okolností, jako je např. nadměrné zvětšení sleziny (např. kongestivní splenomegalie u portální hypertenze nebo při trombóze lienální žíly), dochází k větší „nabídce“ skladování slezinou a k sekvestraci většího podílu destiček v ní. Podíl takto sekvestrovaných trombocytů může nakonec tvořit až 90 % všech cirkulujících destiček. Přitom není ovlivněno jejich přežití. Trombocytopenie je tak relativně častým nálezem u pacientů s jaterní cirhózou, portální hypertenzí a splenomegalií. U většiny těchto pacientů je však také přítomna lehká anemie a neutropenie ze stejného důvodu jako trombocytopenie, ne však u všech. Celý tento syndrom zvýšeného skladování krevních elementů ve slezině nazýváme hypersplenismus. Trombocytopenie u těchto pacientů není těžká a není sama o sobě obvykle příčinou krvácení. U každé trombocytopenie bez jinak zjevné příčiny se tedy musí na tuto eventualitu pomýšlet.

REJSTŘÍK

A

abciximab 35, 53
 agonisté trombopoetinového
 receptoru 101
 akutní steatóza jater
 v těhotenství 44
 anti-D imunoglobulin 93
 – hemolýza 94
 antifosfolipidový syndrom 47,
 48
 – katastrofický 49
 – v graviditě 121
 antitrombocytární protilátky
 – vyšetření 74
 argatroban 60
 azathioprin 108

B

Bernardův-Soulierův
 syndrom 40
 buněčná cytotoxicita závislá
 na protilátce 98

C

cyklofosamid 108
 cyklosporin A 109
 cytostatika 50

D

danaparoid 60
 danazol 109, 113

dapson 109
 demarkační membránový
 systém 23
 denzní tubulární systém 17
 dexamethason 83, 84
 diseminovaná intravaskulární
 koagulace 42

E

eltrombopag 101, 103

F

faktor aktivující B
 lymfocyty 65
 Fanconioho anemie 40
 fondaparinux 60
 funkční konfirmační test 59

G

glykoprotein(y) 17, 45
 – IIb/IIIa 20

H

Helicobacter pylori 34, 48, 72
 HELLP syndrom 44
 hemolyticko-uremický
 syndrom 42
 heparin 54, 58
 – nízkomolekulární 58
 heparinem indukovaná
 trombocytopenie 54, 58

- diagnóza 58
 - léčba 60
 - u těhotných 122
- historie ITP 12

I

- imunitní dysregulace 47
- imunitní trombocytopenie 45
- dětský věk 62
 - incidence a prevalence 63
 - patogeneze 67
 - – buněčná imunita 65
 - – diagnóza 69
 - – humorální složka 64
 - – monocytomakrofágový systém 68
 - – refrakterní 75
 - – terapie 75
 - primární 61
 - refrakterní 111
 - sekundární 47
 - terapie
 - – 1. linie 79
 - – 2. linie 94
 - – hodnocení odpovědi 78
 - – indikace 76
 - – po selhání 1. a 2. linie léčby 110
 - – u dospělých 82
 - v dětském věku 119
 - v graviditě 121
- imunoablační léčba 114
- imunodeficit, běžný
- variabilní 62
- infekce 42, 48, 74
- integrinové receptory 18
- intoxikace 38
- intracelulární signální dráhy 24
- intravenózní
- imunoglobuliny 88

J

- Janus signální dráhy 25
- jaterní cirhóza 36

K

- kanalikulární systém 17
- kontraktilní fibrilární systém 17
- kortikosteroidy 57, 81
- vysoké dávky 84
- kostní dřev 23
- vyšetření 34, 73
- krevní deriváty 124
- krvácení 32, 42, 72, 77, 125

L

- lepirudin 60
- livedo reticularis 49
- lupus antikoagulans 50

M

- megakaryocyt 20, 22
- methyprednisolon 83
- monocytomakrofágový systém 68
- myelodysplastický syndrom 73
- MYH-9, abnormalita 40
- mykofenolát mofetil 110

N

- novorozenec matky s ITP 124

O

- organely 17
- overwhelming post-splenectomy infection 97

P

- paroxysmální noční hemoglobinurie 39
- petechie 33, 119
- poléková imunitní trombocytopenie 50
 - autoprotilátky navozené lékem 53
 - diagnostika 55
 - incidence 51
 - lékem indukované vazebné místo pro protilátky 53
 - protilátky specifické pro lék 53
 - protilátky závislé na „přítomnosti“ léku 52
 - s imunitními komplexy 54
 - terapie 57
- porod u pacientky s ITP 123
- povrchový destičkový glykoproteiny 64
- proliferace indukující ligand 65
- promegakaryoblast 23
- protilátky proti jádrům neutrofilů 47
- protinádorová léčba 38
- pseudotrombocytopenie 35
- purpura
 - potransfuzní 31, 46, 56
 - trombotická trombocytopenická 14, 41, 61, 122

R

- receptor c-Mpl 25
- refrakternost na podání transfuze trombocytů 46
- rituximab 98
 - dávkování 99

- versus splenektomie 100
- romiplostim 101, 102

S

- Sapporo kritéria 48
- splenektomie 75, 96, 98
 - komplikace 97
- syndrom
 - antifosfolipidový 47, 48, 121
 - katastrofický 49
 - Bernardův-Soulierův 40
 - HELLP 44
 - hemolyticko-uremický 42
 - myelodysplastický 73
 - myelofibrózy 24
 - trombocytopenie 40
 - trombocytopenie a absence radia 40
 - Wiskottův-Aldrichův 40
- systémový lupus erythematoses 47, 62

T

- těhotenský test 73
- těhotenství a trombocytopenie 43
- test 4T 59
- těžká aplastická anemie 39
- T lymfocyty 65
 - regulační 66
- transfuze trombocytů 60
- transfuzní přípravy 124
- transkripční faktor GATA-1 24
- transkripční faktor NF-E2 24
- trombocytární granula 17
- trombocytopenie
 - aloimunitní 45
 - asociovaná s infekcí HIV 38

- autoimunitní 46
- diferenciální diagnóza 31
- diluční 37
- distribuční 36
- farmakologická anamnéza 32
- fyzikální vyšetření 33
- gestační 121
- imunitně zprostředkovaná *viz* imunitní trombocytopenie
- kongenitální 41
- mechanismus 29
- osobní anamnéza 32
- poléková imunitní *viz* poléková imunitní trombocytopenie
- rodinná anamnéza 30
- v důsledku snížené produkce trombocytů v kostní dřeni 37
- ze snížené megakaryopoézy 37
- ze zvýšené destrukce trombocytů v periferní krvi 45
- ze zvýšeného skladování trombocytů mimo periferní krev 36
- ze zvýšené konzumpce trombocytů 41
- z nedostatečné tvorby destiček v kostní dřeni 39
- zprostředkovaná tvorbou autoprotilátek proti trombocytům 46

- způsobená imunokomplexy 47
- trombocyty
 - autologní 74
 - nedostatečná produkce 68
 - normální počet 16, 21
 - struktura 16, 18
- trombopoetin 25
 - nedostatečná produkce 68
- trombopoeza 24
- trombus 21

V

- vaskulární endoteliální růstový faktor 24
- vinblastin 110
- vinkristin 110
- virové infekce 37
- vitamin B₁₂ 39
- von Willebrandova choroba 40
- von Willebrandův faktor 41
- vyšetření
 - doplňková 73
 - základní 72

W

- wait and watch 78
- Wiskottův-Aldrichův syndrom 40

Ž

- život ohrožující krvácení 77, 81, 125