

MUDr. Jaromír Gumulec,
Prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.
a kolektiv

TROMBOTICKÉ MIKROANGIOPATIE

1 TROMBOTICKÉ MIKROANGIOPATIE V OBRAZECH

Jaromír Gumulec, Jaromír Gumulec Jr.

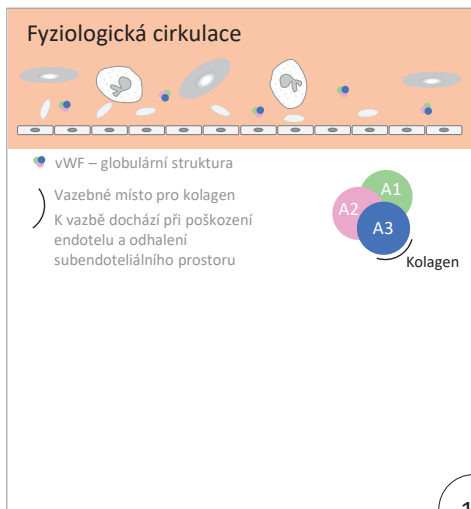
1.1 FYZIOLOGICKÁ MIKROCIRKULACE

Cévní prostředí je dynamický systém, schopný rychlé, ale zároveň kontrolované reakce na poškození [1]. Za normálních okolností destičky, leukocyty i erytrocyty cirkulují v neporušené cévě spolu s plazmatickým von Willebrandovým faktorem (vWF) [2, 3]. K interakci vWF s destičkami nedochází, přestože destičky mají na svém povrchu glykoproteiny (GP) schopné vWF vázat: GP Ib/V/IX a GP IIb/IIIa (obr. 1.1a). GP IIb/IIIa vyžaduje pro interakci s vWF aktivaci a konformační změnu. Interakce vWF s destičkovým GP Ib/IX/V je nejspíše regulovaná cirkulací podobně jako molekuly vWF, které se „rozbalují“ do vláknité struktury vlivem krevního proudu (viz níže) [4].

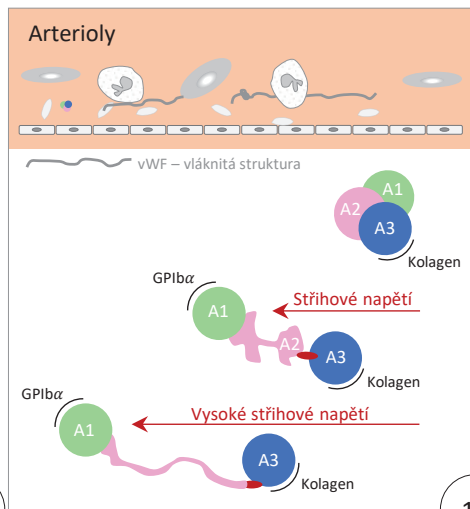
Nastartování těchto změn závisí na rychlosti krevního proudu. V arteriolách, tedy v prostředí s rychlým krevním proudem, se globulární struktura vWF rozvinuje a postupně odhaluje místo pro vazbu destičkového GP Ib/V/IX a poté i místo, ve kterém je molekula vWF štěpena metaloproteázou ADAMTS13 [4–8] (obr. 1.1b). Optimální velikost molekul vWF je důležitá pro udržení schopnosti vWF zajistit primární hemostázu (tzn. v místě poškození cévní stěny vázat destičky) a současně nebýt příliš trombogenní (tzn. nekontrolovaně vytvářet agregáty s destičkami – viz dále) [8].

vWF je uvolňován z endotelových buněk bazálně a pulzně. Pulzní sekrece vWF je akutní cesta spouštěná epizodicky různými agonisty aktivujícími endotel (obr. 1.1c) [2, 9]. Děje se tak ve stresu s cílem připravit organismus na možné poranění a krvácení. vWF je uvolňován do mikrocirkulace v podobě velkých multimerů vWF (ULM-vWF) [1]. Bazální sekrece vWF je kontinuální a cílem je udržet jeho fyziologickou plazmatickou hladinu [2, 3]. Určitá část molekul vWF je uvolňována do subendoteliálního matrix, kde má za úkol vázat svou A3 doménou kolagen a kde svou roli hraje v případě poškození endotelu [3].

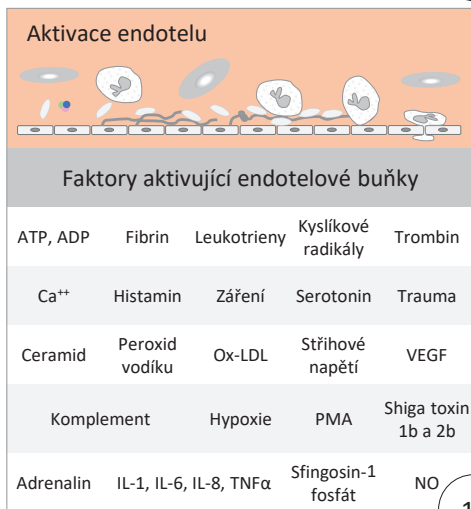
ULM-vWF se rychle vážou na endotel a vlivem krevního proudu se v arteriolách rozvíjejí do podoby dlouhých vláken [10]. Tato dlouhá vlákna účinně vážou destičky [11]. ADAMTS13 štěpí ULM-vWF na menší části a chrání tak mikrocirkulaci před její obstrukcí nekontrolovanou tvorbou agregátů destiček s ULM-vWF [12] (obr. 1.1d).



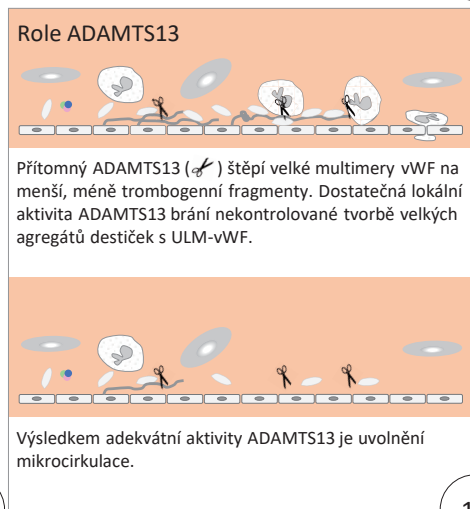
1a



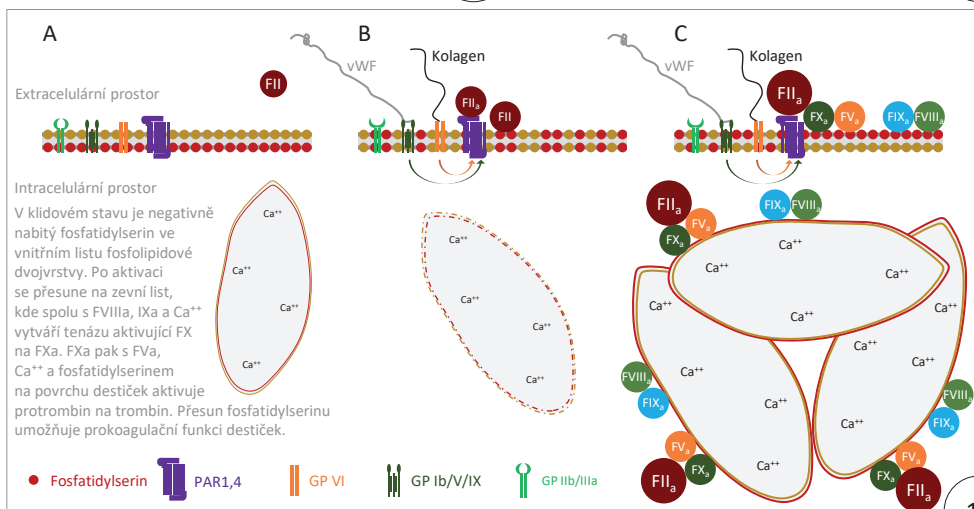
1b



1c



1d



1e

1.3 AKTIVACE KOMPLEMENTU

Komplement a koagulace mají řadu společných vlastností – rychlý a lokální účinek, efektivní regulaci bránící poškození organismu, intenzitu odpovědi modifikovanou podle velikosti inzultu [22]. Komplement rozpoznává patogeny nebo poškozené buňky, které pomocí buněčných a chemických prostředků odstraňuje a podporuje hojení [23]. Aktivace komplementu běží třemi cestami (lektinovou [LP], klasickou [CP] a alternativní [AP]), které se sbíhají při vytvoření C3 konvertázy. Ta štěpí C3 na C3b a C3a.

Aktivace klasické cesty: Klasická cesta je spouštěna C1q, která rozpoznává konstantní část (Fc) molekul imunoglobulinů (Ig G a M) navázaných na antigeny nebo mikrobiální povrchy, a kromě toho další spouštěče (C reaktivní protein, apoptotické buňky, mikrobiální struktury, lipidy a cukry). Fyziologicky C1q cirkuluje ve „sledovacím“ modu v komplexu se serinovými proteázami C1r a C1s ($C1qr^2s^2$). Jakmile se C1q naváže na svůj cíl, C1r projde konformační změnou, aktivuje sebe sama a C1s.²⁴ Aktivovaná C1s štěpí C4 na C4a a C4b. C4b se naváže na buněčný povrch nedaleko od spouštěče což zajišťuje lokalizaci účinku [22]. Na stejném místě se na navázanou C4b váže C2, kterou nedaleko přítomná C1s štěpí na C2b a C2a. C2a je uvolňován a C2b zůstává navázan v komplexu s C4b. Výsledkem je C4b2a, tj. C3 konvertáza CP. Normálně je celý proces lokalizován v místě jeho aktivace (obr. 1.2a).

Aktivace lektinové cesty: Rozpoznávací molekuly lektinové cesty tzn. manózu vázající lektin (MBL), ficoliny a/nebo kolektin-11 v krvi cirkulují v komplexu s MBL-asociovanými zymogeny serinových proteáz (MASP1, MASP2 a MASP2) [22]. LP je spuštěna, jakmile MBL rozpozná patogen nebo poškozenou buňku. MASP1 po své aktivaci štěpí C2 a aktivuje MASP2. Aktivovaná MASP2 štěpí C4 a C2 za vzniku C4b2a, tj. C3 konvertázy LP. Za normálních okolností celý proces probíhá na povrchu poškozených / cizích buněk [22, 25, 26] (obr. 1.2b).

Aktivace alternativní cesty: Alternativní cesta komplementu je v krvi neustále přítomna v mírném, přísně kontrolovaném stupni aktivity. Malé množství proteinu C3 spontánně podléhá hydrolyze na $C3(H_2O)$, čímž se odhalí vazebné místo pro faktor B (FB) [27]. Bb se váže na $C3(H_2O)$ za vzniku $C3(H_2O)Bb$, čímž vzniká nestabilní cirkulující C3.

1.4 INTERAKCE KOMPLEMENTU, HEMOSTÁZY A TROMBÓZY

Během vývoje organismy vyvinuly obranné systémy proti vykrvácení nebo infekci. Patologie se rozvine, pokud se neaktivuje optimální imunitní a/nebo koagulační odpověď. Obě proteolytické kaskády (koagulace a komplement) jsou všeobecně nesprávně vnímány jako oddělené a spolu nesouvisející. Pochopení vzájemných interakcí mezi těmito dvěma kaskádami pomáhá ozřejmit mnohé z klinické praxe [22, 31–33].

Endotelovými buňkami (méně megakaryocyty) syntetizované ULM-vWF jsou následně štěpeny na menší části metaloproteázou ADAMTS13. ULM-vWF poskytují prostor pro vazbu C3b (a pravděpodobně i pro C3b[H₂O]). Tím se vWF podílí na vzniku a akumulaci C3 konvertázy AP (C3bBb) lokalizované v místě aktivace/poškození endotelu [34, 35]. Tento proces je regulován inhibitory komplementu – faktorem I (FI) a jeho kofaktorem (FH). FH se váže na vWF [36] a za určitých podmínek zmenšuje ULM-vWF na menší formy [37]. FI inaktivuje C3b na iC3b s podporou vWF a FH a tím účinně tlumí nadměrnou aktivaci AP [38]. Ke kontrole přispívá ADAMTS13 štěpením ULM-vWF na menší části, které již nemohou poskytovat substrát pro další aktivaci AP (obr. 1.3a).

Při nedostatku ADAMTS13 je štěpení ULM-vWF neadekvátní. ULM-vWF se kumulují v mikrocirkulaci a podporují excesivní adhezi destiček. Současně dochází k amplifikaci AP vedoucí k tvorbě C5 konvertázy a ke štěpení C5 na C5a a C5b (obr. 1.3b). V dalších krocích vznikají komplexy C5b-7, resp. C5b-8, resp. C5b-9, které podporují další poškozování cévní stěny, prozánětlivé a prokoagulační nastavení.

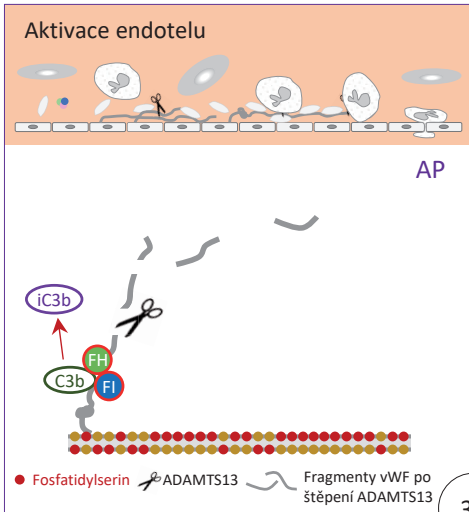
Protrombotické nastavení spočívá ve formaci protrombinázového komplexu (FVa + FXa + protrombin) na povrchu aktivované membrány endotelových buněk nebo destiček s navazující generací trombinu. Současně aktivovaný komplement vede k uvolňování tkáňového faktoru (TF), který vede k tvorbě protrombinázového komplexu zevní cestou prostřednictvím aktivace FVII na FVIIa.

Trombocyty adherované na ULM-vWF jsou dále aktivovány (mj. trombinem) a na svém povrchu poskytují podmínky pro další aktivaci koagulace (další protrombinázové komplexy a další aktivace komplementu) [22, 39, 40] (obr. 1.3c).

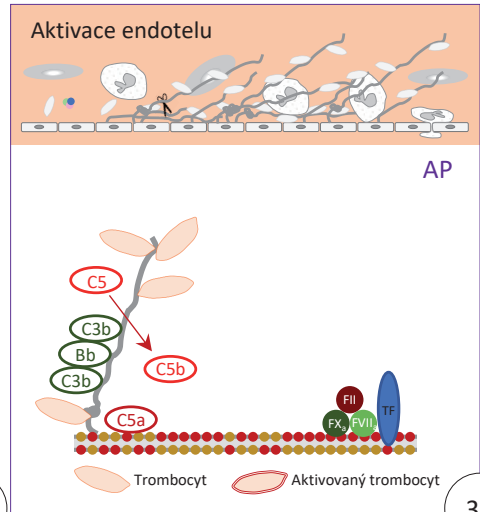
Do tohoto prostředí jsou zachytávány leukocyty. Neutrofilní granulocyty mohou uvolňováním neutrofilních extracelulárních pastí dále ovlivňovat systém hemostázy a fibrinolýzy.

Výsledný vliv na funkci cév závisí na aktuálním soupeření pro- a antikomplementových, resp. pro- a antikoagulačních, resp. pro- a antifibrinolytických faktorů [22]. Dramatickým vyústěním bývá obstrukce mikrocirkulace a ischemické poškození cílových tkání a orgánů [41] (obr. 1.3d).

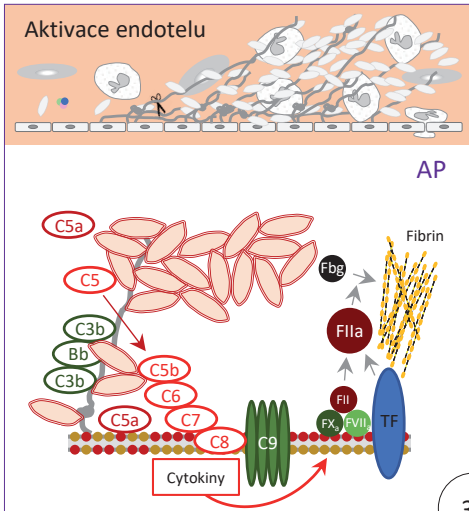
LP je spouštěna, jakmile MBL rozpozná patogen nebo poškozenou hostitelskou buňku. MASP1 může přímo aktivovat endotelové buňky prostřednictvím PAR4 [42]. Aktivuje tak intracelulární signalizační kaskádu a podporuje sekreci prozánětlivých IL-6 [25] a IL-8 [43]. MASP1 dále aktivuje protrombin [44],



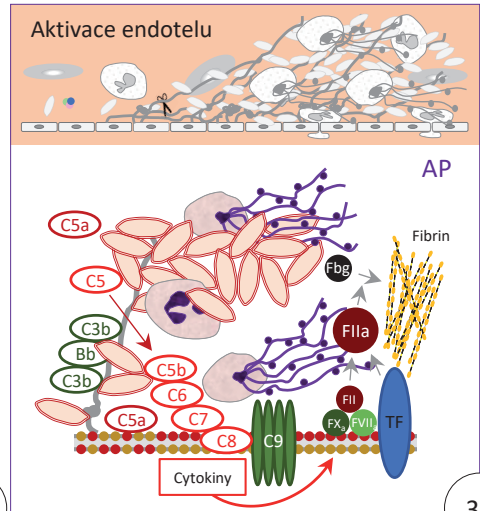
3a



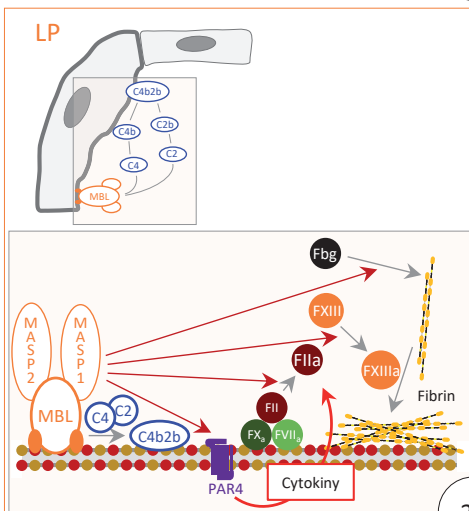
3b



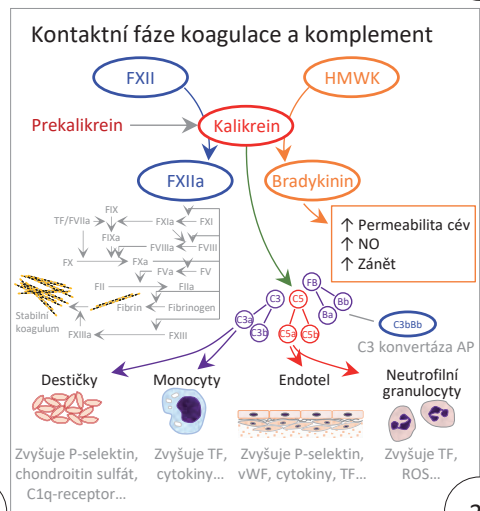
3c



3d



3e



3f

trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy, štěpí fibrinogen na fibrinové monomery, aktivuje FXIII a podporuje stabilizaci fibrinové sítě a z vysokomolekulárního kininogenu (HMWK) tvoří bradykinin. MASP2 aktivuje protrombin na trombin [45]. LP je schopná násobně větší protrombotické aktivity než jiné aktivátory koagulace [22] (obr. 1.3e).

Kalikrein-kininový systém hraje klíčovou roli v zánětlivé odpovědi [46]. Účastní se patogeneze řady zánětlivých chorob a představuje spojnicu mezi koagulací a komplementem [22]. Po kontaktu s negativně nabitým povrchem dochází ke konformační změně FXII a tvoří se malé množství FXIIa, který aktivuje prekalikrein na kalikrein, FIX na FIXa a klasickou cestu aktivace komplementu přeměnou C1r na jeho aktivní formu [47].

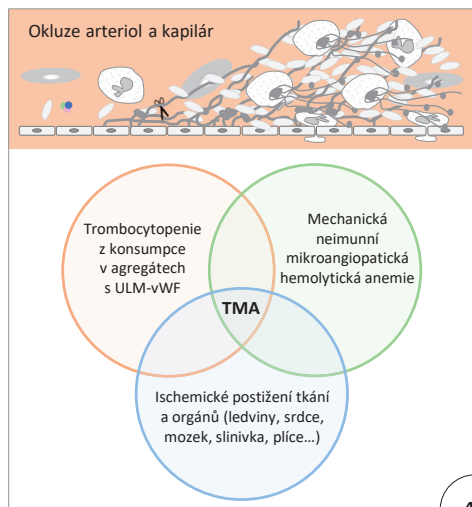
Vznikající kalikrein štěpí/aktivuje další FXII a HMWK. Takto vzniklý FXIIa potencuje vnitřní cestou koagulační kaskády generaci trombinu. Současně vzniká bradykinin, který zvyšuje cévní permeabilitu, koncentraci oxidu dusného (NO) a zánětlivou odpověď. HMWK slouží jako kofaktor v této reakci, váže se na cizí povrchy a tím zajišťuje lokalizaci procesu) [48].

Ovlivnění komplementu kalikreinem je zprostředkováno štěpením FB na Bb a Ba [49]. Štěpí FH [50], C3 na C3a a C3b, resp. C5 na C5a a C5b. C3 a C5 se deponují na cizí povrchy (mj. katetry, mimotělní oběh...) [48]. C3a a C5a slouží jako chemoatraktanty leukocytů a podporují jejich adhezi na cizí povrch a jejich následnou aktivaci [22]. C1-INH neutralizuje kalikrein FXIIa, FXIa a C1r [22]. Trombin, FIXa, FXa a FXIa přímo = nezávisle na C3 štěpí C5 [51–55]. Podstatně efektivněji tento proces běží vytvoří-li trombin s C5 konvertázami (C4b2aC3b nebo C3bBbC3b) aktivnější terminální komplex zvaný C5b₇₋₉ [55]. Zvýšená aktivace AP vyvolaná expresí P-selektinu na trombocytech a endoteliálních buňkách posiluje trvalou tvorbu C3a a C5a, což uzavírá začarovaný kruh, který bez účinné negativní regulace vede k poškození tkání [22] (obr. 1.3f).

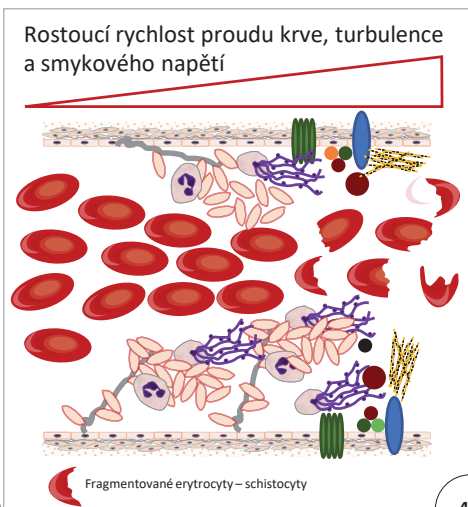
1.5 PATOFYZIOLOGIE TROMBOTICKÉ MIKROANGIOPATIE

Trombotickou mikroangiopatii (TMA) patologicky charakterizuje okluzivní trombóza mikrocirkulace – primárně terminálních arteriol a kapilár. Laboratorně a klinicky TMA definují konsumpční trombocytopenie, mikroangiopatická hemolytická anemie (MAHA) z mechanického poškození erytrocytů uvnitř cév s výrazným uvolňováním LDH a dynamicky se vyvíjející projevy tkáňové a orgánové ischemie [41, 56]. Stupeň závažnosti těchto změn odráží rozsah postižení mikrocirkulace (obr. 1.4a).

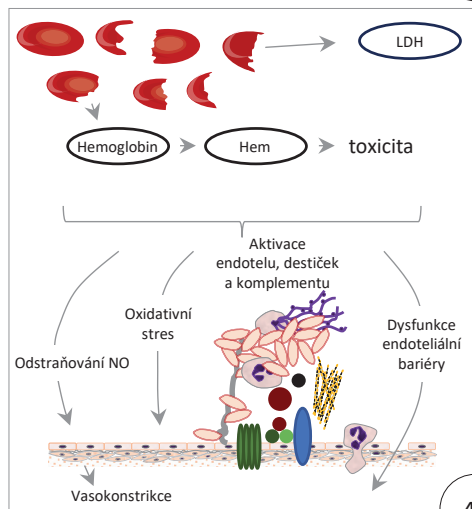
Složení mikrotrombů se u různých typů TMA liší a jednotlivé typy TMA preferenčně postihují různé tkáně a orgány [5, 57, 58]. Trombocytopenie vzniká konsumpcí ve velkých destičkových agregátech s ULM-vWF v terminálních arteriolách a navazujících kapilárách [41, 56]. Proudící krev působí na cévní stěnu smykovým napětím, které roste s rychlostí krevního proudu a nejvíce působí



4a



4b



4c

Klinická a laboratorní diagnostika trombotické mikroangiopatie		
Anamnéza a klinický obraz	Základní laboratorní vyšetření	Rozšířená laboratorní vyšetření
Teploty, únava, bolesti hlavy, tmavá moč...	Krevní obraz	LDH
	Základní biochemie	Schistocyty
Projevy poškození tkání a orgánů	Základní koagulační testy	PAT
Pokud na TMA myslíme, lze diagnózu udělat kdekoli a kdykoli za 4-6 hodin!		

4d

Vysoká aktivita LDH	Ukazatel intravaskulární hemolýzy a poškození tkání
Volný hemoglobin	Méně vhodné pro monitorování dynamiky hemolýzy
Pokles koncentrace haptoglobinu	Potvrzuje intravaskulární hemolýzu – vhodné pro laboratorní monitorování
Pokles koncentrace hemopexinu	Navazuje na pokles haptoglobinu – ukazatel hloubky a trvání hemolýzy
Výměnná plazmaferéza a plazma jako náhradní roztok koncentrace těchto analytů prudce mění	

4e

Odběry krve před TPEX	Plazma citrát sodný (alespoň 5-10 mL)
	Sérum gel (alespoň 10 mL) Fakultativně EDTA plazma (2-3 mL)
Zpracování vzorků krve v laboratoři	
Po centrifugaci rozdělte plazmu, resp. sérum do kryozkumavek po maximálně 0,4 mL	
Zkumavku s materiálem pro izolaci DNA zamrazte celou	
Vzorky skladujte při -60°C (krátce při -20°C až -40°C)	
Laboratorní vyšetření při diferenciální diagnostice TMA	
- Lupus antikoagulant, ACLA, anti-B2GPI... - C3 a C4, event. CH50, AH50, C5b-9 a anti-CFH... - ANA, ENA a RF, anti-dsDNA, ANCA, anti-Sc170, anti-centromera... - Troponin T a/nebo troponin I - H1N1, HAV, HCV, HBV, HIV, Coxsackie B virus, EBV, CMV, parvovirus B19... - B12, homocystein a methylmalonová kyselina v plazmě...	

4f

na stěnu arteriol [59]. Na patologicky zvýšené smykové napětí reagují endotelové buňky a krevní destičky aktivací a protrombotickým nastavením [59, 60].

MAHA vzniká při průchodu erytrocytů arterioly s prudkým a turbulentním krevním proudem kolem destičkových agregátů. V tomto prostředí je membrána erytrocytů vystavována vysokému mechanickému napětí, poškozuje se a praská. To vede ke vzniku fragmentů označovaných jako schistocyty. Přesný mechanismus tohoto jevu však dosud není zcela objasněn (obr. 1.4b) [56]. Při tom se do plazmy z erytrocytů uvolňuje LDH a hemoglobin. U pacientů s TMA je zvýšení aktivity LDH navozeno i ischemickým poškozením tkání a orgánů (myokard, mozek, ledviny, plíce, játra, slinivka břišní, kosterní svaly, resp. placenta) [61].

Volný hemoglobin a jeho metabolity přispívají k poškození endotelu, protože vážou a odstraňují oxid dusnatý (NO), zvyšují oxidativní stres a vedou k aktivaci a dysfunkci endotelových buněk [62]. I tyto procesy přispívají k vazookluzivním a trombotickým příhodám [63–65]. Velmi toxický volný hemoglobin je rychle a pevně vázán na haptoglobin a v tomto komplexu vychytáván buňkami retikuloendotelového systému [62]. Při masivní intravaskulární hemolýze dochází ke spotřebování haptoglobinu a volný hemoglobin už touto cestu nemůže být odstraňován. Dochází k jeho oxidaci, uvolnění hemu a železa [66]. Toxický volný hem je po přechodné vazbě na albumin vázán na hemoexin a takto transportován do jater. I tento obranný mechanismus může být konsumpcí hemoexinu vyčerpán [67–69]. V této situaci nic nebrání volnému hemoglobinu a hemu dále poškozovat cévy a tkáň (obr. 1.4c) [70–72].

1.6 DIAGNOSTIKA TROMBOTICKÉ MIKROANGIOPATIE

TMA jsou spojeny s vysokým rizikem fatálních následků pozdní nebo neadekvátní léčby [56, 73–75]. Diagnostika tedy musí být rychlá. Diagnostický závěr představuje průkaz MAHA s rozvíjející se trombocytopenií a dynamicky se měnícím klinickým obrazem postižení nejméně jednoho orgánového systému (centrální nervový systém, ledviny, gastrointestinální trakt, plíce, kardiovaskulární systém...) – viz obr. 1.5b a 1.7a.

Diagnostický algoritmus je jednoduchý a realizovatelný kdekoli a kdykoli během 3–6 h. Velmi rychle jsou v každé nemocnici dostupné výsledky základních laboratorních vyšetření – krevního obrazu a screeningových biochemických a koagulačních testů. U podobných pacientů s podezřením na TMA je třeba bezodkladně indikovat doplňující testy – stanovení aktivity LDH, prohlédnutí krevních nátěrů na přítomnost schistocytů a přímý antiglobulinový test (PAT). Zvýšení počtu schistocytů nad 1 % je typické pro TTP, u jiných typů TMA bývá počet schistocytů jiný. Negativní PAT je důkazem neimunní hemolýzy (obr. 1.4d) [76–84]. Více informací o hloubce a dynamice intravaskulární hemolýzy poskytují haptoglobin a hemopexin. Fyziologicky jsou v plazmě ve srovnatelné koncentraci. Při masivní intravaskulární hemolýze dochází k sekvenční konsumpci nejdříve haptoglobinu a poté hemopexinu popsané výše (obr. 1.4e) [68, 69, 85].

Vysoká mortalita a morbidita neléčené TMA vyžaduje časné zahájení adekvátní léčby. Ideálně během prvních 4–8 h od prvního kontaktu s pacientem výměnnou plazmaferézou (TPEX). To má zásadní význam u získané TTP. Samozřejmostí je hospitalizace na jednotce intenzivní péče a komplexní podpůrná léčba [61, 80, 82–84]. Před zahájením série TPEX je nezbytné nabrat krev k vyšetření aktivity ADAMTS13, protilátek proti ADAMTS13 a k archivaci materiálu pro navazující diferenciální diagnostiku (obr. 1.4f) [39, 61, 76, 83, 86–93].

1.7 PATOFYZIOLOGIE A LÉČBA TROMBOTICKÉ TROMBOCYTOPENICKÉ PURPURY

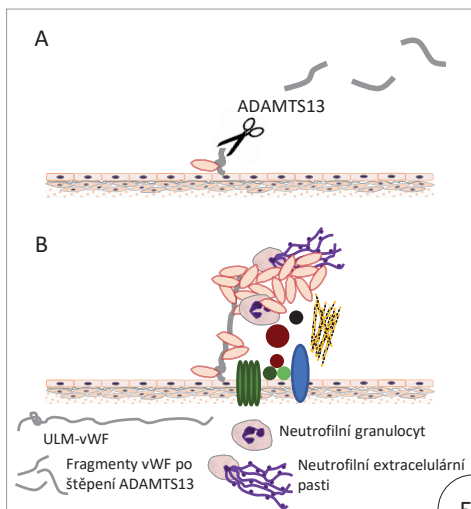
V případě TTP dochází díky snížení aktivity ADAMTS13 k nedostatečnému štěpení ULM-vWF. V případě získané TTP (aTTP) je příčinou nedostatku ADAMTS13 tvorba protilátek proti ADAMTS13, u kongenitální TTP (cTTP) je deficit ADAMTS13 vrozený.

U zdravých osob se molekuly ADAMTS13 připojují k vazebným místům na povrchu endotelových buněk a štěpí ULM-vWF. Kratší řetězce vWF, které v plazmě po rozštěpení cirkulují, patologickou adhezí a agregací destiček nevyvolávají (obr. 1.5a panel A) [56]. U pacientů s TTP nedostatečná aktivita ADAMTS13 brání štěpení ULM-vWF, na které adherují a pak mezi sebou agregují krevní destičky (obr. 1.5a panel B) [94].

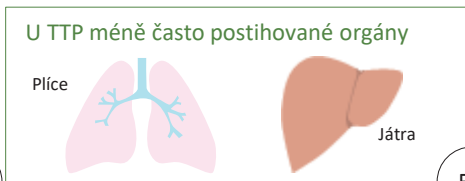
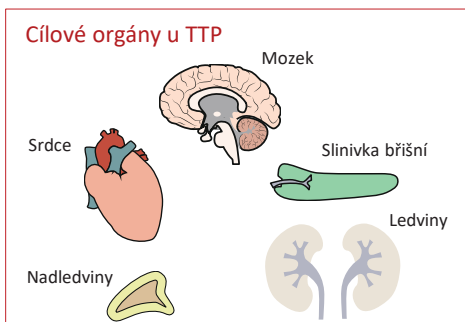
Agregáty ULM-vWF s destičkami uzavírají arterioly a kapiláry, vedou k mikroangiopatické hemolytické anemii, ke konsumpční trombocytopenii a k ischemickému poškození tkání a orgánů. Destičkové mikrotromby jsou bohaté na vWF s malými depozity fibrinogenu nebo fibrinu. U pacientů s aTTP jsou součástí mikrotrombů i imunoglobuliny (anti-ADAMTS13) a složky komplementu. Nápadně bývá postižena mikrocirkulace mozku, myokardu, variabilně ledvin, slinivky a nadledvin. Mikrocirkulace plic a jater bývá ušetřena (obr. 1.5b) [57, 95–97].

Mortalita neléčené TTP je 90 % [98]. Včasná TPEX spolu s imunosupresivní terapií sníží mortalitu na 10–20 % [99–101]. Adekvátní léčbu je nutné zahájit bezprostředně po průkazu TMA, ideálně během prvních 4–8 h od prvního kontaktu s pacientem kombinací imunosupresivní terapie a TPEX. Před zahájením série TPEX je nezbytné nabrat krev pro navazující diferenciální diagnostiku (viz obr. 1.4f). Přidání kaplacizumabu ke kombinaci TPEX s kortikosteroidy zásadně zrychluje uvolnění mikrocirkulace a snižuje riziko ischemického poškození tkání a orgánů (kaplacizumab je bivalentní nanočástice cílená na A1 doménu vWF – po vazbě na vWF brání interakci s destičkovým GP Ib). Přidání rituximabu zvyšuje pravděpodobnost rychlé eradikace anti-ADAMTS13 (rituximab je protilátka proti CD20 – vede k depleci B lymfocytů – touto cestou sníží tvorbu nechtěných anti-ADAMTS13 i u pacientů refrakterních na kortikosteroidy) – obr. 1.5c [102].

U pacientů s opakovanými akutními epizodami cTTP je indikována profylaktická substituce ADAMTS13 plazmatickými koncentráty FVIII bohatými na ADAMTS13, čerstvě zmrazenou plazmou nebo bezpečněji patogenně inaktivovanou plazmou. Velikost a frekvence dávek má kromě klinického obrazu respektovat biologický poločas ADAMTS13 (2,5–3,5 dnů) [103, 104]. Ve vybraných případech je na zvážení TPEX s patogenně inaktivovanou plazmou jako náhradním roztokem. Nově je pro profylaxi i léčbu dostupný rekombinantní ADAMTS13 [105–107].



5a

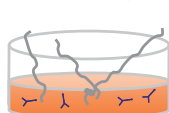


5b

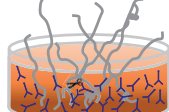
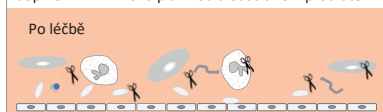
Léčba aTTP TPEX s kortikoidy bez caplacizumabu



Postižení mikrocirkulace je před zahájením léčby zásadní problém. Rychle obnovení mikrocirkulace je kruciální pro další osud tkání a orgánů. Hlavním cílem výměnné plazmaferézy je odstranění anti-ADAMTS13. Plazma jako náhradní roztok zajistí doplnění chybějícího ADAMTS13.



Obnova mikrocirkulace je pomalejší. Nastupuje až po doplnění ADAMTS13 plazmou a odstranění protilátek.

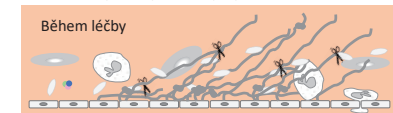


Po sérii TPEX je odstraněno velké množství anti-ADAMTS13. Imunosupresivní léčba brání další tvorbě protilátek. ADAMTS13 doplňovaný plazmou umožní štěpení ULM-vWF. Po dobu podávání caplacizumab brání vazbě destiček na zbylé ULM-vWF. Mikrocirkulace je volná.

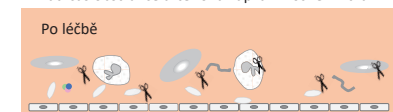
Léčba aTTP TPEX s kortikoidy a caplacizumabem



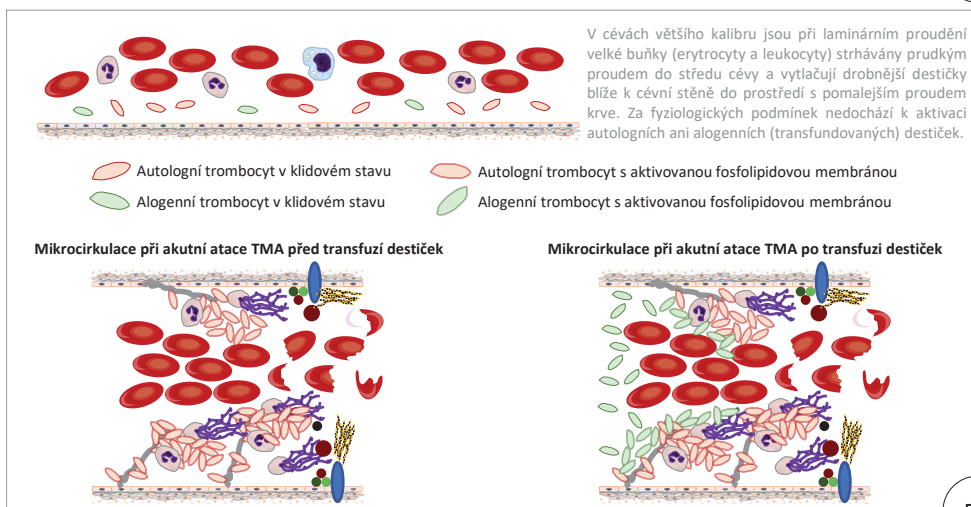
Caplacizumab rychle uvolní destičky z ULM-vWF a zkrátí čas obstrukce arteriol a kapilár = ischemii tkání.



Caplacizumab rychle uvolní destičky z ULM-vWF a zkrátí čas obstrukce arteriol a kapilár = ischemii tkání.



5c



5d

2 TMA – DOSTUPNOST DIAGNOSTICKÝCH METOD A LÉČEBNÝCH MOŽNOSTÍ V ČR V ROCE 2021

VÝSLEDKY SYNDIKOVANÉHO PRŮZKUMU MEZI KLINICKÝMI HEMATOLOGY

Jaromír Gumulec, Miriam Lánská, Ingrid Hrachovinová, Peter Salaj, Zdeněk Kořístek, Ivo Demel, David Buffa, Lucie Broskevičová, Martin Pulcer, Petra Kovářová, Jan Martinek, Pavel Žák

MINIMUM PRO PRAXI

- » Pokud lékař na TMA myslí, je možné diagnózu udělat kdykoli a kdekoli během 3–6 hodin vyšetřením krevního obrazu (hemoglobin, trombocyty, schistocyty), LDH a PAT.
- » Použití PLASMIC a French skóre pomáhá včas kvalifikovaně odhadnout pravděpodobnost významného deficitu ADAMTS13.
- » Výsledek vyšetření aktivity ADAMTS13 je ve velkých centrech dostupný do 24 hodin – interval 72 hodin navrhovaný mezinárodní společností o trombóze a hemostáze naplní 71 % českých pracovišť.
- » Terapie TMA má být zahájena co možná nejdříve – v případě iTTP ideálně do 8 hodin, nejpozději do 24 hodin od přijetí pacienta.

ÚVOD

Trombotické mikroangiopatie (TMA) jsou vzácná onemocnění s vysokým rizikem rozvoje závažného orgánového poškození a smrti v případě pozdní nebo neadekvátní léčby [1–4]. Mortalita TTP je 90 % a k polovině úmrtí dochází během prvních 24 h [5, 6]. Zavedení terapeutické TPEX v kombinaci s kortikosteroidy do terapie snížilo mortalitu na 10–20 % [7–9]. U atypického hemolyticko-uremického syndromu (aHUS) vede včasná TPEX k léčebné odpovědi u 30–70 % případů [10–13]. S výjimkou aHUS pacientů se známou abnormalitou membránového kofaktorového proteinu (MCP nebo CD46) je TPEX indikována do okamžiku, kdy je dostupný ekulizumab [13, 14]. Kromě těchto situací je TPEX

indikována u všech pacientů s doposud nejasným typem TMA [15]. TMA je tedy třeba diagnostikovat a její typ definovat rychle.

Diagnostika akutní ataky TMA je jednoduchá s výsledkem dostupným během 3–6 h, pokud lékař na TMA myslí. Z anamnézy a klinického obrazu poutají pozornost rozvíjející se známky orgánového poškození, event. horečka, projevy anemie a/nebo krvácení. V laboratorním obraze je trombocytopenie, hemolytická anemie a známky orgánového poškození. Vysoká aktivita LDH, průkaz schistocytů v krevním nátěru a negativní přímý antiglobulinový test (PAT) jsou potvrzením neimunní intravaskulární hemolýzy [14, 16–23]. Žádná další vyšetření není třeba pro diagnostický závěr akutní TMA provádět. Nutný je start léčby sérií TPEX a před zahájením této léčby doplnění odběrů krve k vyšetření mj. aktivity ADAMTS13, protilátek proti ADAMTS13 a k další diferenciální diagnostice TMA [16, 22, 24–33]. Není-li dostatečně rychle dostupný výsledek vyšetření aktivity ADAMTS13, je možné odhadnout pravděpodobnost získané/imunitní TTP (iTTP) podle skóre PLASMIC nebo French skóre [34–37]. Pro komplementem mediovaný HUS (CM-HUS) neexistuje žádný spolehlivý, dostatečně rychlý a specifický test. Proto je nutné u pacientů s akutní atakou TMA vyloučit TTP, s infekcí asociovaný HUS (IA-HUS) a různé sekundární TMA [16]. Pokud po maximálně pěti provedených TPEX není dosaženo odpovědi nebo orgánové poškození progreduje, má být zahájena terapie inhibitory komplementu. Čím dříve je léčebné inhibice komplementu dosaženo, tím menší jsou finální následky poškození tkání a orgánů [38–40].

V České republice je péče o pacienty s TMA vedena podle zahraničních doporučení, žádné „národní“ doporučení diagnostiky a léčby TTP, HUS a sekundárních TMA v době publikace tohoto článku neexistuje. S dostupností stanovení ADAMTS13, cílené léčby iTTP (kaplacizumab), resp. CM-HUS (ekulizumab, ravulizumab), poznatků o účinnosti TPEX u TMA asociovaných s graviditou a se související odbornou diskusí se významně zlepšilo povědomí o TMA u odborné veřejnosti.

Během září a října roku 2021 proběhl na popud Centra pro trombotické mikroangiopatie Ostrava (C4TMO) a České skupiny pro trombotické mikroangiopatie (CS4TMA) formou on-line dotazování připraveného společenství IQVIA podle podkladů CS4TMA mezi klinickými hematology průzkum s cílem ověřit povědomí lékařů o pravidlech a dostupnosti péče o pacienty s TMA. Odborným základem pro vytvoření sady otázek byly formulace pravidel správné klinické praxe péče o pacienty s TTP [41]. Vzorek byl vytvořen pomocí stratifikovaného náhodného výběru respondentů. Jako bázi pro konstrukci vzorku (výběrový soubor) byla použita OneKey™ databáze IQVIA™. Celkem bylo provedeno 49 rozhovorů. V článku uvádíme výsledky průzkumu a jejich interpretaci s respektem k dostupným poznatkům a zkušenostem s péčí o pacienty s akutní TMA.

POČET A SPEKTRUM OSLOVENÝCH HEMATOLOGŮ

Celkem bylo s dotazníkem osloveno 612 hematologů a 49 (8 %) z nich vyplnilo dotazník. 42 % všech oslovených lékařů uvedlo, že pacienti s TMA neléčí. 23 % lékařů slíbilo, že dotazník vyplní, ale neučinili tak nebo vyplnění dotazníku odmítli nebo do dotazníku vstoupili, ale nevyplnili jej. 27 % kontaktovaných hematologů se nepodařilo zastihnout.

Ze 49 hematologů, kteří vyplnili dotazník, 41 % pracovalo v době průzkumu v Centru intenzivní hematologické péče, 29 % v Centru s rozšířenou hematologickou péčí, 24 % v hematologické ambulanci v rámci nemocnice II. typu a 6 % v samostatné ambulanci mimo nemocnici. 82 %, resp. 10 % respondentů byli atestovaní hematologové s klinickou praxí delší, resp. kratší než 10 let a 2 %, resp. 6 % byli absolventi lékařské fakulty pracující na hematologickém pracovišti po absolvování, resp. před absolvováním tzv. interního kmene.

SPEKTRUM A POČTY OŠETŘOVANÝCH PACIENTŮ

Oslovení hematologové aktivně v průběhu jednoho běžného roku pečují v mediánu o 1,8 pacienta akutní atakou TMA, o 1,9 pacienta iTTP, o 0,4 pacienta aHUS, resp. o 0,6 pacientek se syndromem HELLP (detaily v tab. 2.1). V dispenzární péči hematologů v době průzkumu bylo průměrně 3,9 pacientů s anamnézou iTTP, 0,5 žen s anamnézou syndromu HELLP, 0,4 pacientů s anamnézou aHUS a 0,3 pacientů s jiným typem TMA. Nejvíce pacientů s TMA je do péče hematologa referováno z interních oddělení (40,8 %), následují gynekologicko-porodnická oddělení (16,9 %), jiná, blíže nespecifikovaná pracoviště (14,3 %), pracoviště urgentního příjmu (12,0 %), neurologická oddělení (10,7 %) a pracoviště praktických lékařů nebo terénních specialistů (5,3 %).

DOSTUPNOST DIAGNOSTICKÝCH METOD A VYUŽÍVÁNÍ SKÓROVACÍCH SYSTÉMŮ

Stanovení počtu schistocytů, aktivity LDH, výsledku přímého antiglobulinového testu (PAT) a koncentrace vysoce senzitivního troponinu je na naprosté většině pracovišť dostupné kdykoli do 4–6 h. Výsledek stanovení koncentrace haptu-

■ **Tabulka 2.1** Průměrný počet pacientů s akutní atakou různých typů TMA v aktivní péči hematologa v průběhu jednoho běžného roku

Počet pacientů	Akutní ataka TMA	Akutní ataka iTTP	Akutní ataka aHUS	Akutní syndrom HELLP
> 5	4,1 % hematologů	2,0 % hematologů	2,0 % hematologů	2,0 % hematologů
3–5	22,4 % hematologů	26,5 % hematologů		4,1 % hematologů
1–2	28,6 % hematologů	20,4 % hematologů	18,4 % hematologů	12,2 % hematologů
< 1	6,1 % hematologů	20,4 % hematologů	6,1 % hematologů	10,2 % hematologů
0	38,8 % hematologů	30,6 % hematologů	73,5 % hematologů	71,4 % hematologů

■ **Tabulka 2.2** Dostupnost stanovení počtu schistocytů, aktivity LDH, výsledku PAT, koncentrace haptoglobinu, hemopexinu a vysoce senzitivního troponinu

Dostupnost	Počet schisto- cytů	Aktivita LDH	Výsledek PAT	Koncentrace haptoglobinu	Koncentrace hemopexinu	Koncentrace vysoce senzitivního troponinu
kdykoli do 4–6 h	91,8 % pracovišť	98,0 % pracovišť	93,9 % pracovišť	59,2 % pracovišť	16,3 % pracovišť	98,0 % pracovišť
jen během obvyklé pracovní doby	8,2 % pracovišť	2,0 % pracovišť	6,1 % pracovišť	40,8 % pracovišť	83,7 % pracovišť	2,0 % pracovišť

globinu, resp. hemopexinu je do 4–6 h dostupný na 59,2 %, resp. 16,3 % pracovišť (detaily v tab. 2.2).

Na otázku, je-li na pracovišti respondenta možné zhodnocení PLASMIC, resp. French skóre pro stanovení pravděpodobnosti diagnózy iTTP před dostupností výsledku vyšetření aktivity ADAMTS13 odpovědělo pozitivně 75,5 %, resp. 55,1 % hematologů. 24,5 %, resp. 44,9 % hematologů s PLASMIC, resp. French skóre nepracuje.

Dostupnost metody stanovení, resp. výsledku vyšetření aktivity ADAMTS13, antigenu ADAMTS13, titru protilátek proti ADAMTS13 a inhibitoru ADAMTS13 je popsána v tab. 2.3 a 2.4. Pro stanovení aktivity ADAMTS13 byla v době

■ **Tabulka 2.3** Dostupnost metody stanovení aktivity ADAMTS13, antigenu ADAMTS13, titru protilátek proti ADAMTS13 a inhibitoru ADAMTS13 na pracovištích respondentů

Postup	Aktivita ADAMTS13	Antigen ADAMTS13	Titř protilátek proti ADAMTS13	Inhibitor ADAMTS13
nevěšetřujeme ani nikam neodesíláme	—	2,0 % pracovišť	—	2,0 % pracovišť
nevěšetřujeme, ale odesíláme na jiné pracoviště	63,3 % pracovišť	63,3 % pracovišť	61,2 % pracovišť	57,2 % pracovišť
věšetřujeme jen během obvyklé pracovní doby	10,2 % pracovišť	10,2 % pracovišť	12,3 % pracovišť	16,3 % pracovišť
věšetřujeme, výsledek do 48 h	—	24,5 % pracovišť	26,5 % pracovišť	24,5 % pracovišť
věšetřujeme, výsledek do 24 h	26,5 % pracovišť	—	—	—

■ **Tabulka 2.4** Dostupnost výsledku stanovení aktivity ADAMTS13, antigenu ADAMTS13, titru protilátek proti ADAMTS13 a inhibitoru ADAMTS13 na pracovištích respondentů

Dostupnost	Aktivita ADAMTS13	Antigen ADAMTS13	Titř protilátek proti ADAMTS13	Inhibitor ADAMTS13
do 24 h	19,4 % pracovišť	19,4 % pracovišť	3,3 % pracovišť	3,6 % pracovišť
do 48 h	29,0 % pracovišť	29,0 % pracovišť	36,7 % pracovišť	28,6 % pracovišť
do 72 h	22,6 % pracovišť	22,6 % pracovišť	23,3 % pracovišť	32,1 % pracovišť
do 5 dnů	6,5 % pracovišť	6,5 % pracovišť	6,7 % pracovišť	3,6 % pracovišť
do 7 dnů	19,4 % pracovišť	19,4 % pracovišť	23,3 % pracovišť	17,9 % pracovišť
do 10 dnů	3,2 % pracovišť	3,2 % pracovišť	—	3,6 % pracovišť
do 14 dnů	—	—	6,7 % pracovišť	3,6 % pracovišť
do 21 dnů	—	—	—	3,5 % pracovišť
do 30 dnů	—	—	—	3,5 % pracovišť

průzkumu na 88,9 % pracovišť používána metoda ELISA, na 27,8 % rychlý screeningový test a na 22,2 % pracovišť chemiluminiscenční metody.

Průkaz infekce shiga toxin produkujícími kmeny *Escherichia coli* je podle 61,2 % respondentů prováděna pomocí kultivačního vyšetření stolice a podle 28,6 % respondentů i PCR detekcí genů kódujících shiga toxin ve stolici nebo v séru. Při podezření na infekci *Streptococcus pneumoniae* je podle 59,2 % respondentů využíván PCR průkaz pneumokoka v krvi nebo mozkomíšním moku.

Dostupnost metody stanovení, resp. výsledku vyšetření C3 a C4 složek komplementu, aktivity komplementu klasickou cestou (CH50), alternativní cestou (AH50), koncentrace solubilního terminálního komplexu (sC5b-9), faktoru H (CFH) a exprese CD46 na leukocytech (zpravidla granulocytech) je uvedena v tab. 2.5 a 2.6. Mutační analýza genů komplementu je dostupná podle 6,1 % respondentů.

ZPRACOVÁNÍ A ARCHIVACE BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

Zpracování vzorků krve nabraných před zahájením léčby k archivaci, tj. separace séra nebo plazmy, rozdělení vzorků do alikvotů, jejich evidence a zamrazení je kdykoli možné podle 59,2 % respondentů. Podle 14,3 % respondentů je na jejich pracovištích možné archivaci provádět jen během běžné pracovní doby a na stejně velkém podílu pracovišť je archivace možná, ale rutinně se neprovádí. Pro 12,2 % pracovišť není archivace vzorků dostupná. Na pracovištích, kde je archivace vzorků prováděna, jsou alikvoty séra nebo plazmy, resp. vzorky krve pro budoucí izolaci deoxyribonukleové kyseliny zamrazovány při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (72,1 % pracovišť), $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (30,2 % pracovišť), resp. při -25 až $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ (32,6 % pracovišť).

REJSTŘÍK

A

- ADAMTS13 26, 45, 72, 162
- adheze 16
- agregace 16
- akutní renální poškození 148
- akutní těhotenská steatóza jater 183
- alternativní cesta 17, 76
- anti-CFH pozitivní pacienti 155
- antifosfolipidový syndrom 185
 - katastrofický 127, 186
 - léčba gravidních žen 187
- antihipertenziva 139
- antikoagulace 94
- archivace biologického materiálu 46, 60, 62
 - žádanka 62
- atypický hemolyticko-uremický syndrom (aHUS) 79, 143. viz též komplementem mediováný hemolyticko-uremický syndrom (CM-HUS)
- asociovaný s těhotenstvím 150
- diagnostika 148
- klinický obraz 147
- laboratorní diagnostika 81
- laboratorní nálezy 147
- terapie 152
- v dětském věku 118
 - klinická symptomatologie 120
 - plazmaferéza 121

B

- bazální sekrece vWF 14
- bolesti na hrudi 196
- bradykinin 22

C

- cévní prostředí 14
- citrátová toxicita 96
- Coombs negativní hemolytická anemie 164

D

- dárcovská plazma 95
- dětský pacient 108
- DGK ϵ (diacylglycerol kináza ϵ) 122, 147
- diagnostické metody 44
- diagnosticko-terapeutické algoritmy 48
- diseminovaná intravaskulární koagulopatie 103

E

- ekulizumab 32, 48, 83
 - aHUS 153
 - u dětí 121
- Escherichia coli 123, 132, 134

F

- faktor I 20, 78, 145
- fosfatidylserin 16
- French skóre 45

G

- gastroenteritida 140, 148
- genetické vyšetření 83
- glykoproteiny 14
 - destičkové GP 16

H

- HELLP syndrom 180

helmovité buňky 70
 hem 24
 hemoglobin 24
 hemolyticko-uremický syndrom 60
 – asociovaný s infekcí
 – – diagnostika 136
 – – terapie 139
 – asociovaný s infekcí (STEC-HUS) 132
 – asociovaný s mutacemi v genu *DGKE* 122
 – léčený bez terapeutické výměnné plazmaferézy 194
 – mediováný komplementem 181
 – – v dětském věku 118
 hemolyticko-uremický syndrom při infekci shiga toxin produkujícími bakteriemi (STEC-HUS) 28
 – v dětském věku 123
 hemostáza 14, 20

Ch

chřipka 123, 125

I

informovaný souhlas pacienta s archivací biologického materiálu a izolací DNA 65
 inhibitory komplementu 20, 32
 International Hereditary Trombotic Thrombocytopenic Purpura Registry 88

K

kalikrein-kininový systém 22
 kancerogeneze 79
 kaplacizumab 48
 – a TTP 168, 198
 kazuistiky 193
 keratocyty 70
 klasická cesta 17, 76
 koagulace 17
 komplement 17
 – aktivace 17
 – faktor H 145
 – interakce 20
 komplementární faktor H 145

komplementem mediováný hemolyticko-uremický syndrom (CM-HUS) 30
 komplementový systém 75
 – aktivace 77
 – interpretace testů 82
 – laboratorní diagnostika 80
 – pre-analytická fáze laboratorní diagnostiky 79
 konsumpční trombocytopenie 22
 kortikosteroidy 167
 krevní obraz 67
 krevní proud 14

L

laboratorní diagnostika u TMA 61
 léčebná výměnná plazmaferéza 25, 48, 92
 – centrifugační 94
 – membránová 94
 – náhradní roztok 93, 95
 – plazmatické koncentrace léků 95
 – provedení 93
 – u CM-HUS 32
 – u komplementem zprostředkované TMA 102
 – u TMA asociované s léky 103
 – u TMA asociované s transplantací 102
 – u TMA asociovaných s infekcí 101
 – u TMA v těhotenství 103
 – v léčbě vrozené TTP 101
 – v léčbě získané TTP 98
 – žilní přístup 95
 lektinová cesta 17, 76, 77

M

manózu vázající lektin 17, 76
 MCP (membrane cofactor protein) 145
 metabolická methylmalonová TMA 122
 metabolismus B12 203
 mikroangiopatická hemolytická anemie 22
 mikrocirkulace, fyziologická 14
 mikrosférocyty 70
 mikrotromby 22
 mutace v genu pro CFH 145

N

nekontrolovaná aktivace 16
novorozenci s těžkou
hyperbilirubinemií 90

O

Octaplas LG 95
orgánové ischemie 22
oxid dusnatý 24

P

patogenně inaktivovaná plazma 89
PLASMIC 45
porod 181
postpartální CM-HUS 209
pre-analytické zpracování vzorků
v laboratoři 62
preeklampsie 179
primární trombotické
mikroangiopatie 114, 121
proteolytická kaskáda 20
protokol pro provádění odběrů krve 62
protrombotické nastavení 20
pulzní sekrece vWF 14

R

ravulizumab 48, 84
– aHUS 154
reakce štěpu proti hostiteli 103
renální sklerodermální krize 127
rituximab 48
– a TTP 167

S

SARS-CoV-2 123, 125
sekundární trombotické
mikroangiopatie 60
– v dětském věku 123
shiga toxin 28, 123
– shiga toxin 2 30
schistocyty 24, 25
– COVID 73
– cytologické hodnocení 69

– doporučení pro identifikaci,
kvantifikaci a diagnostickou
hodnotu 68
– kvantitativní hodnocení 70
– v nátěru krve 67, 71
skórovací systémy 44
směsná patogenně inaktivovaná
plazma 95
společná cesta 18
správná klinická praxe péče o pacienty
s TTP 43
Streptococcus pneumoniae 123, 125, 136

T

terminální komplex 18
test AH50 (100) 80
test CH50 (100) 80, 83
test podle Kabata a Mayera 80
thrombomodulin 145
tkáňový faktor 18
transfúze destičkových přípravků 28
trombin 16
trombocytopenie 22
tromboprofylaxe 169
trombotická trombocytopenická
purpura 60
– léčba 26
– patofyziologie 26
– v dětském věku 114
– – diagnóza 116
– – léčba 117
– – prognóza 118
– vrozená 86
– – klinické projevy 87
– – léčba hTTP v graviditě 89
– – terapie 88
– v těhotenství 177, 212
– získaná 162
– – diagnostika 164
– – klinické projevy 163
– – léčba 166
trombotické mikroangiopatie
– akutní ataka, diagnostika 43
– diagnostika 25
– dostupnost diagnostických metod
a léčebných možností v ČR 42
– patofyziologie 22

- polékové 206
- spojené s transplantací orgánů 129, 218
- v dětském věku 108
- – diagnostika 113
- – klinické projevy 109
- – spojené s autoimunitou 127
- – spojené s hypertenzí 128
- – spojené s léky 126
- – spojené s malignitou 128
- – terapie 113
- v peripartálním období 174, 178, 188
- – diagnostika 189
- v těhotenství 174, 188
- – diagnostika 189
- Trombotic Thrombocytopenic Purpura Registry 88
- trombóza 20

U

- Upshawův-Schulmanův syndrom 72, 86

V

- verotoxin 133
- von Willebrandův faktor 14
- vykousnuté buňky 70
- vysokomolekulární kininogen 22

Z

- zpracování biologického materiálu 46

Ž

- žádanka o archivaci biologického materiálu 62
- železo 24