



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**Trombocytopenie versus pseudotrombocytopenie
aneb vliv ThromboExactu v diferenciální diagnostice
trombocytopenie**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: [SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ](#)

Autor: Veronika Šťovíčková

Školitel: MUDr. Ivana Haintzová

České Budějovice 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Trombocytopenie versus pseudotrombocytopenie aneb vliv ThromboExactu v diferenciální diagnostice trombocytopenie, jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2.5.2018

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala paní MUDr. Ivaně Haintzové za odborné vedení práce, věcné připomínky a spolehlivost, kterou mi v průběhu mé bakalářské práce věnovala. Dále pak celému kolektivu Oblastní nemocnice Příbram za trpělivost a spolupráci při sběru dat.

Trombocytopenie versus pseudotrombocytopenie aneb vliv ThromboExactu v diferenciální diagnostice trombocytopenie

Abstrakt

Trombocytopenie patří mezi kvantitativní poruchy krevních destiček, při níž dochází ke snížení množství trombocytů a tím i k poruše jejich funkce. Příčinou vzniku může být jak snížená tvorba trombocytů v kostní dřeni, tak i zvýšený zánik nebo spotřeba krevních destiček. Trombocytopenie mohou být jak vrozené, tak i získané.

Podle stanovení počtu trombocytů na automatických nebo poloautomatických analyzátorech můžeme diagnostikovat lehkou, středně těžkou a těžkou trombocytopenii. Odběrem do speciální zkumavky na trombocyty (tzv. ThromboExact) můžeme zároveň odhalit pseudotrombocytopenii, která vzniká aglutinací trombocytů ve vyšetřovaném vzorku. Aglutinace může být způsobena jak přítomností protilátek v krvi, tak i nesprávným odběrem či jinou technickou závadou. Správné odlišení trombocytopenie od pseudotrombocytopenie pak hraje významnou roli v další diagnostice a léčbě pacienta.

Cílem této bakalářské práce je určit, jaký vliv má odběr do ThromboExactu v diferenciální diagnostice trombocytopenie a prokázat, že u pacientů s pseudotrombocytopenií dochází po odběru do speciálních zkumavek k úpravě počtu trombocytů, které by za jiných okolností byly v důsledku aglutinace sníženy.

Klíčová slova: trombocytopenie; pseudotrombocytopenie; diferenciální diagnostika

Thrombocytopenia versus pseudotrombocytopenia and the influence of the ThromboExact in differential diagnosis of thrombocytopenia

Abstract

Thrombocytopenia belongs among the quantitative disorders of platelets during which decrease of platelets occurs leading to a disorder of their function. The Cause of onset can be reduced creation of platelets in bone marrow as well as increased destruction or usage of platelets. Thrombocytopenias can be both innate and gained.

According to determined number of platelets measured by automatic or polo-automatic analysers we can diagnose mild, moderate and severe thrombocytopenia. By taking the blood to the specialised tube for platelets (a.k.a. ThromboExact) we can at the same time reveal pseudo-thrombocytopenia, which arises by agglutinating of platelets in the examined specimen. Agglutination can be caused by presence of antibodies in blood as well as by incorrect blood taking or another detrimental technique. A Correct differentiation of thrombocytopenia from pseudo-thrombocytopenia then plays a significant role in further diagnosis and treatment of a patient.

The goal of this Bachelor thesis is to determine what influence does the blood sample to the ThromboExact have in differential diagnosis of thrombocytopenia and to prove that in case of patients with pseudo-thrombocytopenia there is an adjustment to number of platelets after the blood taking to special tubes which would be at different circumstances due to agglutination decreased.

Key words: thrombocytopenia; pseudo-thrombocytopenia; differential diagnosis

Obsah

| | |
|---|----|
| Abstrakt..... | 4 |
| Abstract..... | 5 |
| 1. Úvod..... | 8 |
| 2. Literární přehled..... | 9 |
| 2.1. Krev..... | 9 |
| 2.1.1. Funkce krve..... | 9 |
| 2.1.2. Složení krve..... | 9 |
| 2.2. Trombocyty..... | 10 |
| 2.2.1. Tvorba a vývoj trombocytů..... | 10 |
| 2.2.2. Funkce trombocytů..... | 11 |
| 2.2.3. Morfologie a metabolismus trombocytů..... | 11 |
| 2.2.4. Hodnocení trombocytů v nátěru periferní krve..... | 12 |
| 2.3. Fyziologie procesu primární hemostázy..... | 13 |
| 2.3.1. Primární hemostáza..... | 13 |
| 2.3.2. Odstraňování krevního trombu..... | 14 |
| 2.4. Poruchy krevního srážení z destičkových příčin..... | 15 |
| 2.4.1. Trombocytopenie..... | 15 |
| 2.5. Pseudotrombocytopenie..... | 24 |
| 3. Cíl práce a hypotézy..... | 26 |
| 4. Metodika..... | 27 |
| 4.1. Odběr krve pro stanovení počtu trombocytů..... | 27 |
| 4.2. Stanovení počtu trombocytů..... | 27 |
| 4.2.1. Princip stanovení počtu trombocytů na analyzátoru Sysmex XN..... | 27 |
| 4.2.2. Postup..... | 28 |
| 4.2.3. Interpretace výsledku z analyzátoru..... | 29 |
| 4.3. Mikroskopické vyšetření trombocytů..... | 34 |
| 4.3.1. Princip..... | 34 |
| 4.3.2. Materiál..... | 34 |
| 4.3.3. Reagencie..... | 34 |
| 4.3.4. Příprava barev..... | 34 |
| 4.3.5. Zhotovení krevního nátěru..... | 34 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4.3.6. | Barvení..... | 35 |
| 4.3.7. | Hodnocení nátěru..... | 35 |
| 4.4. | Odběr krve do ThromboExactu..... | 39 |
| 4.5. | Složení ThromboExactu..... | 39 |
| 5. | Výsledky..... | 40 |
| 5.1. | Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10 ⁹ /l..... | 40 |
| 5.2. | Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10 ⁹ /l podle pohlaví..... | 41 |
| 5.3. | Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10 ⁹ /l podle věku..... | 42 |
| 5.4. | Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10 ⁹ /l podle oddělení..... | 43 |
| 6. | Diskuze..... | 44 |
| 7. | Závěr..... | 45 |
| 8. | Seznam literatury..... | 46 |
| 9. | Seznam obrázků, tabulek a grafů..... | 50 |
| 10. | Seznam příloh..... | 51 |
| 11. | Seznam zkratk..... | 54 |

1. Úvod

Trombocyty - krevní destičky, nám v těle zajišťují mnoho důležitých funkcí. Vznikají při megakaryocytóze v kostní dřeni. V krvi přežívají 8-12 dní. Trombocyty jsou bezjaderné buňky a jejich normální hodnoty v periferní krvi se pohybují od $150 \times 10^9/l$ do $400 \times 10^9/l$.

V teoretické části mé bakalářské práce bych chtěla podrobněji přiblížit trombocyty obecně. Jejich vznik, funkci a morfologii.

Druhá část teoretické části je věnovaná nemocem, při kterých dochází ke snížení počtu trombocytů – trombocytopeniím. Trombocytopenii rozdělujeme na vrozenou a získanou. Získané trombocytopenie dále rozdělujeme na imunitně podmíněné a neimunitně podmíněné. Do každé z těchto skupin patří určitá onemocnění, kterým se podrobněji věnuji ve své práci.

Samostatnou skupinou je pseudotrombocytopenie. Jak již název napovídá, dochází k falešnému snížení počtu krevních destiček pod $150 \times 10^9/l$. K tomuto falešnému snížení může docházet z více důvodů.

V praktické části se budu věnovat stanovení počtu trombocytů na analyzátoru Sysmex XN 1000. Pokud nám analyzátor vyhodnotí nízkou hladinu trombocytů, provedeme nátěr na sklíčko a zkontrolujeme, zda se v nátěru nenalézají shluky destiček. Pokud v nátěru shluky destiček nalezneme, mohlo by se jednat o pseudotrombocytopenii a provedeme kontrolní odběr do tzv. ThromboExactu.

Cílem mé bakalářské práce je určit statistickou významnost zvýšení počtu krevních destiček při odběru do ThromboExactu oproti odběru do zkumavky s antikoagulačním činidlem K₃EDTOU a zamezení tak falešně nízkých hodnot a nesprávných diagnóz.

2. Literární přehled

2.1. Krev

Krev je červená vazká tekutina, která koluje v cévním systému člověka a je v kontaktu se všemi orgány. Obsahuje krevní barviva vázaná na krvinky. Objem krve u dospělého člověka se pohybuje okolo 5–6 litrů. (Kittnar, 2011)

2.1.1. Funkce krve

Krev má několik důležitých funkcí, mezi které patří transport plynů a látek jako je glukóza, hormony, enzymy. Odvádí odpadní látky do ledvin a jater, kde dochází k jejich detoxikaci a odvodu z těla ven. Úkolem krve je také udržování stálosti vnitřního prostředí a má důležitý podíl na obranyschopnosti organismu. (Indrák, 2006)

2.1.2. Složení krve

Krev se skládá z krevní plazmy a krevních elementů.

Krevní plazma

Krevní plazma je tekutá část krve. Za fyziologických podmínek je to světle žlutá, průhledná tekutina. Obsahuje anorganické a organické látky. (Adam, 2007)

Mezi anorganické látky patří hlavně voda, která tvoří až 90 % objemu krevní plazmy. Voda se v plazmě vyskytuje buď vázaná na bílkovinách, nebo volně a tvoří zde funkci rozpouštědla. Dále jsou přítomné různé soli, které jsou významné pro udržování stálého osmotického tlaku a pH. Důležitou součástí je i vápník, který je nezbytný jak pro stavbu kostí a zubů tak i pro srážení krve a pro přenos nervového vzruchu. V malé míře jsou zastoupeny i jiné ionty. (Kittnar, 2011)

Organické látky v plazmě jsou hlavně bílkoviny, které rozdělujeme podle chemické stavby na albuminy, globuliny a fibrinogen. Albuminy v krvi udržují vodu a přenášejí jí z tkání do krve. Jsou také přenašeči enzymů, léků, hormonů a kovů. Mezi globuliny jsou nejvýznamnější tzv. imunoglobuliny, které mají na svém povrchu protilátky, pomocí kterých jsou schopny zneškodnit škodlivé látky. Při poranění cév se z fibrinogenu tvoří fibrin, který má schopnost zacelit porušenou cévní stěnu. (Kittnar, 2011)

Krevní tělíska

Mezi krevní tělíska nacházející se v krvi patří tři základní typy: A) erytrocyty

B) leukocyty

C) trombocyty

A) Erytrocyty neboli červené krvinky jsou bezjaderné buňky obsahující hemoglobin přenášející kyslík a oxid uhličitý. Erytrocyty vznikají v kostní dřeni a v krvi přežívají 120 dní. (Vydra, 2015)

B) Leukocyty jsou tzv. bílé krvinky, které dělíme na agranulocyty a granulocyty. Mezi agranulocyty řadíme lymfocyty, monocyty a makrofágy a granulocyty dělíme na neutrofile, eozinofily a bazofily. Bílé krvinky mají významnou úlohu při fungování imunitního systému. (Vydra, 2015)

C) Krevní destičky, též zvané jako trombocyty, vznikají v kostní dřeni, jsou bezjaderné a přežívají v krvi 8-12 dní. Mají významnou úlohu v procesu primární hemostázy. (Penka, 2011)

2.2. Trombocyty

2.2.1. Tvorba a vývoj trombocytů

Trombocyty se vyvíjí z kmenové buňky BFU-Meg v CFU-Meg a následně se diferencují v promegakaryoblasty, megakaryoblasty, promegakaryocyty, a nezralé a zralé megakaryocyty. Krevní destičky vznikají odštěpováním zralých megakaryocytů, u kterých dochází pouze k tzv. endomitóze, což znamená mnohonásobné zmnožení genomu v jádře. (Penka, 2011)

Promegakaryoblast je morfologií neidentifikovatelné stadium, avšak v těchto blastech může být pozitivní reakce na specifický glykoprotein IIb, dále pak von Willebrandův faktor a peroxidázu. Jedná se o cca 5-20 % celého megakaryocytárního poolu. Jsou to malé blasty s vysokým obsahem jádra mají výrazně bazofilní cytoplazmu bez granulace. (Penka, 2011)

Dalším stádiem je megakaryoblast, ten představuje asi 20 % megakaryocytární populace. Má intenzivně bazofilní cytoplazmu, velké kulaté nebo lobulizované jádro, které obsahuje několik vyčnívajících nukleolů. (Penka, 2011)

Dále se diferencují v promegakaryocyty. Ty tvoří asi 25 % populace. Velikost megakaryocytu je 15-20 μm . Jádro se zmenšuje a je výrazně lobulizované, hrubší struktury a bez výrazných nukleolů. Cytoplazma má narůžovělé tóny. (Penka, 2011)

Posledním stádiem vývoje jsou zrající a vyzrálé megakaryocyty. Pro ty je typické ztráta bazofilní cytoplazmy a polarizace jádra na okraj cytoplazmy. Zralé megakaryoblasty dosahují velikosti až 40-60 μm , a jedná se tedy o největší a nejvíce zastoupené buňky (cca 60 %) z celé megakaryocytární řady. Celý vývoj zralého megakaryocytu trvá 5-10 dní. (Wintrobe, 2009)

2.2.2. *Funkce trombocytů*

Krevní destičky jsou bezjaderné buňky, které vznikají při megakaryocytóze, která probíhá v kostní dřeni. V krevním řečišti přežívají 8-12 dní. Po uplynutí této doby jsou odstraňovány v retikuloendotelovém systému sleziny, jater a kostní dřeni. Normální počet krevních destiček je 150–400 $\times 10^9/\text{l}$. Mezi nejvýznamnější funkce trombocytů patří vytváření primární krevní zátky a jejich prokoagulační aktivita. Trombocyty totiž obsahují některé koagulační faktory, jako je například fibrinogen, FV, FVIII, FXI. (Indrák, 2007)

Mezi další neméně významné funkce patří adheze k defektům cévní stěny, agregace s uvolňovací reakcí (dekretované mediátory podporují lokální hemostázu), interakce faktorů a inhibitorů koagulační kaskády v komplexech s fosfolipidy a vápenatými ionty (na povrchu trombocytů), retrakce koagula (aktin + myosin), uplatnění v imunitních pochodech (záněť), udržují integritu endotelu. (Fereiro, 2010)

2.2.3. *Morfologie a metabolismus trombocytů*

Jak je již zmíněno v předchozích odstavcích, trombocyt je bezjaderná buňka. Trombocyty obsahují cytoplazmu, ve které se nacházejí některé orgány. Mitochondrie, které produkují ADP a ATP. Rezidua endoplazmatického retikula a Golgiho komplexu, které jsou důležitou zásobárnou vápenatých iontů a podílí se na syntéze některých enzymů. Aktin, myosin a trombostenin, jsou velice důležité při procesu agregace, jelikož umožňují krevní destičce měnit tvar.

Dále pak obsahují chemické látky ze skupiny prostaglandinů, jako je fibrin stabilizující faktor a růstový faktor podněcující proliferaci fibroblastů a endotelových buněk. (Penka, 2009)

Dále se v cytoplazmě objevují tři typy morfologicky odlišných granul. První typ granul obsahují především proteiny, takové granula nazýváme α granula. Druhým typem jsou denzní granula, ty obsahují hlavně ADP, ATP, Ca^{2+} ionty a serotonin. Posledním typem granul jsou lysozomy, které obsahují štěpící enzymy. (Kittnar, 2011)

2.2.4. Hodnocení trombocytů v nátěru periferní krve

2.2.4.1. Kvantitativní

Hodnotíme orientační počet trombocytů

Trombocytopenie

V krevním nátěru nalézáme malé množství trombocytů.

Trombocytóza

V krevním nátěru nalézáme velké množství trombocytů.

2.2.4.2. Morfologické

Změny velikosti

Makrotrombocyt je trombocyt, který je velký, může dosahovat až velikosti erytrocytů o takovém trombocyту říkáme, že se jedná a tzv. gigantický trombocyt. Dalším případem změny velikosti je anizocytóza trombocytů, kdy v krevním nátěru nalézáme různé velikosti trombocytů, na anizocytózu nás upozorňuje i přístroj, protože hodnoty PDW > 17,1 %. (Malara, 2012)

Změny granulace

V krevním nátěru můžeme nalézt hypogranulární trombocyt. Takový trombocyt má snížený počet azurofilních granul, nebo neobsahuje žádná. Hodnocení této morfologické změny je důležité při stanoveních některých onemocnění např. při myelodysplastickém syndromu, akutní leukemii, syndromu šedých destiček. (Pecka, 2006)

Uložení v nátěru

Hodnotíme, zda se trombocyty vyskytují po jedné buňce nebo jestli vytvářejí malé či větší shluky. Shluky trombocytů nám mohou vypovídat o sraženém, tedy špatně provedeném odběru nebo o pseudotrombocytopenii. (Penka, 2011)

2.3. Fyziologie procesu primární hemostázy

Proces krevního srážení nazýváme hemostáza. Hemostáza je velice složitý proces, který musí být přesně regulovaný. Jeho úkolem je zastavit krvácení pouze v místě poranění a pokud nedojde k porušení cévy, má za úkol udržovat tekutost krve. Na krevním srážení se podílí hlavně cévy, krevní destičky a plazmatické koagulační faktory. (Key, 2017)

2.3.1. Primární hemostáza

Primární hemostáza je děj, při kterém dochází k výstavbě primární cévní zátky. Dochází k zacelení porušené celistvosti cévy a to buď z důvodu poranění cévy nebo z nutné obnovy. K zastavení krvácení dochází z důvodu tvorby destičkového agregátu. Pokud dojde k poruše krevních destiček, může dojít k pozměnění či ztrátě schopnosti zastavit krvácení. K zástavě krvácení nestačí normální počet trombocytů ani jejich normální funkce, ale je nutné, aby disponovali hlavně tzv. granuloerem. (Brooks, 2011)

Granulomer jsou granula uspořádaná nejčastěji ve středu destiček. Rozlišujeme dva typy granul a to jsou α a δ . Trombocyty obsahují i další inkluze, které zajišťují jejich energetické a životní nároky. Trombocyt není schopný se dělit, z důvodu absence jádra, žije pouhých 7-10 dní a je odstraňován ve slezině. (Brooks, 2011)

Základní funkcí je tvorba primární cévní zátky, která začíná přilnutím krevní destičky k receptorům kolagenních vláken bazální membrány cévní stěny. Tuto reakci umožňuje vzájemné působení receptoru kolagenních vláken bazální membrány (adheze) a glykoprotein Ib (receptor membrány krevních destiček) prostřednictvím von Willebrandova faktoru. (Ferreiro, 2010)

Nejvýznamnějším krokem je shlukování destiček (agregace). Toto shlukování je umožněno reakcí glykoproteinu IIb/IIIa s fibrinogenem a s von Willebrandovým faktorem. (Penka, 2011)

Adheze destiček je indukována malým množstvím ADP, který je z okolní perivaskulární tkáně a agregace je způsobena velkým množstvím endogenního ADP, který se nachází v granulách destiček. Shlukování vyvolává ale i trombin, adrenalin, kolagen a další látky. Při shlukování mohou destičky změnit tvar, vlastnosti a především lepivost. (Penka, 2011)

Další významnou vlastností destiček je schopnost stažení destičkové zátky, jedná se o tzv. retraktibilitu destiček. Retraktibilitu zajišťuje přítomnost kontraktálních bílkovin v membráně destiček. Bílkoviny zajistí smrštění destičkového trombu a tím i reparativní pochody. Vrcholem primární hemostázy je tvorba destičkového agregátu tzv. bílého trombu, který ale podléhá smrštění a odplavení, pokud nedojde k jeho zpevnění a fixování fibrinovou sítí, která vznikla v procesu krevního srážení. Po fixování a zpevnění vzniká tzv. červený trombus. (Key, 2017)

Trombocyty mají schopnost se účastnit krevní koagulace, což je dáno destičkovým faktorem 3. Hovoříme o fosfolipidech, které poskytují povrch ke vzájemnému kontaktu faktorů plazmatického systému krevního srážení. (Kaushansky, 2009).

Membrána trombocytu je složena z dvojité vrstvy fosfolipidů. V klidových trombocytech se na povrchu membrány nachází sfingomyelin a fosfatidylcholin, kdežto uvnitř destičky se nachází fosfatidylinositol a fosfatidylserin. Aktivace destiček vyvolá tzv. flip-flop reakci, jedná se o transmembránový přesun fosfolipidů, a na zevní membráně se exprimují negativní fosfolipidy. Právě tyto fosfolipidy poté poskytují katalytické povrchy pro koagulační reakce. (Broos, 2011)

Výstavba destičkového agregátu by měla trvat pouze několik minut a k zástavě krvácení by mělo dojít do pěti minut. (Penka, 2011)

2.3.2. Odstraňování krevního trombu

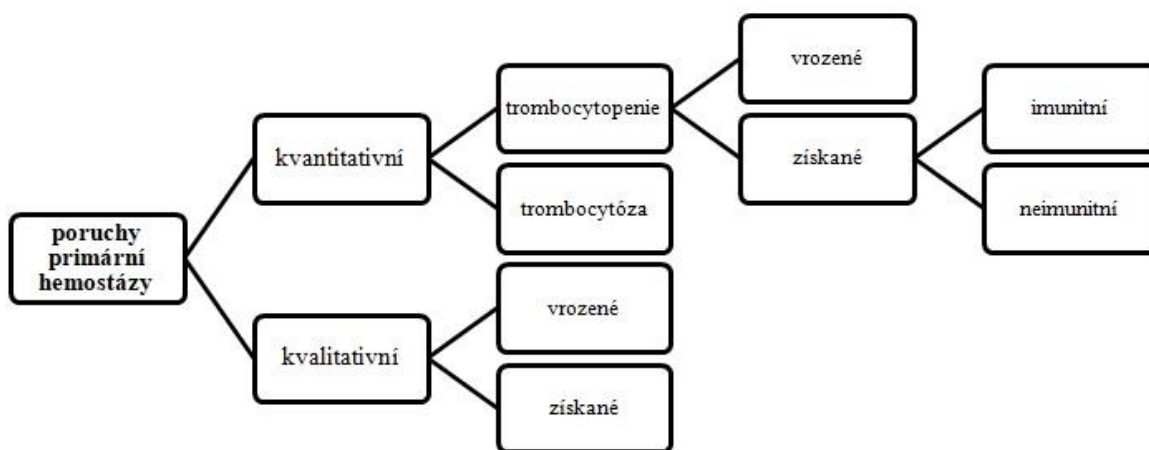
K odstraňování trombu dochází, když už trombus splnil úlohu a jeho přítomnost již není potřeba. Nejprve dochází ke smrštění trombu, kdy trombocyty za pomoci svých aktinových a myozinových filament aktivně zmenšují jeho plochu a pomáhají tak fibroblastům, myocytům a endotelovým buňkám zahájit regeneraci poškozené tkáně.

Další krok je fibrinolýza, důležitou součástí je zde enzym plazminogen, který je přítomný v trombu již od začátku a po několika hodinách až dnech je aktivován tkáňovým faktorem plazminogenu, a ten se pomalu uvolňuje z poškozené tkáně.

Plazminogen je přeměněn na svou aktivní formu plazmin, který je schopný rozpustit fibrinová vlákna, faktor V, faktor VIII a faktor XII. Plazminogenový systém odstraňuje taktéž vzniklé malé sraženiny v kapilárách a brání tak jejich uzavření v jejich průsvitu. (Matsuno,1999)

2.4. Poruchy krevního srážení z destičkových příčin

Jedná se tedy o poruchu primární hemostázy. Dělíme ji na kvantitativní a kvalitativní, dále pak obojí dělíme na vrozené a získané. Získané ještě rozdělujeme na imunitní a neimunitní. (Kozák, 2015)



Obrázek 1 – Schéma poruch primární hemostázy (zdroj vlastní)

2.4.1. Trombocytopenie

Trombocytopenie je stav, při kterém dojde ke snížení trombocytů pod dolní hranici normálního počtu trombocytů. Jak je již uvedeno výše, **normální hodnoty trombocytů činí 150–400 x 10⁹/l**. Trombocytopenie může být provázena krvácením. Pokud se hodnoty krevních destiček pohybují až okolo hodnoty 20x10⁹/l může se objevovat spontánní krvácení. (Kozák, 2015)

Vznik a vývoj onemocnění: Trombocytopenie může vznikat z několika příčin. Může docházet ke snížené tvorbě trombocytů v kostní dřeni, nebo ke zvýšenému zániku nebo spotřebě krevních destiček. Při diluci krve po podání velkého množství krevních transfuzí, nebo při mimotělním oběhu. (Indrák, 2007)

Klinický obraz: Trombocytopenie se projevují časným a povrchovým krvácením. Časné krvácení neboli doba uplynulá od poranění nebo úrazu do prvních krvácivých projevů. Povrchové krvácení s petechiálním kožním nebo slizničním krvácením. Charakteristické jsou epistaxe, krvácení z dásní, příměs krve v moči, krvácení ze zažívacího traktu a gynekologické krvácení. Hemoragie se může objevovat až po poranění, úraze, operaci nebo po jiném invazivním zásahu. (Penka, 2011)

Diagnostika: Nejprve se stanovuje počet trombocytů na automatických nebo poloautomatických analyzátoch, což je v dnešní době velice jednoduchá a poměrně levná metoda. Podle počtu trombocytů označujeme trombocytopenii jako lehkou, středně těžkou a těžkou. Lehká trombocytopenie je taková trombocytopenie, kdy hodnota trombocytů neklesne pod $100 \times 10^9/l$. Jako středně těžkou trombocytopenii považujeme trombocytopenii s hodnotami mezi $100 - 50 \times 10^9/l$. Abychom zařadili trombocytopenii do těžké formy tak se hodnoty musí pohybovat pod $50 \times 10^9/l$. (Penka, 2011)

Pokud jsou trombocyty nižší, provedeme nový odběr s jiným protisrážlivým činidlem. Odběr se provede do speciální zkumavky na trombocyty tvz. ThromboExact, popřípadě s citrátem (zde, ale můžeme použít pouze hodnoty trombocytů). Zkumavka s ThromboExactem nám pomůže odhalit pseudotrombocytopenii. (Kozák, 2015)

Pokud nám odběr do speciální zkumavky nepomohl, musíme provést následující postupy. Důležité je provést nátěr periferní krve na sklíčko a následně jej vyhodnotit pod mikroskopem. V nátěru hodnotíme různé změny trombocytů jako je velikost, shluky, počet atd. Pokud se v nátěru nic neprokáže, odesílá se pacient na speciální pracoviště hematologie a další vyšetření provádí zkušený hematolog. (Bizzaro, 2003)

2.4.1.1. Vrozené trombocytopenie

V dnešní době se používá dělení podle morfologie trombocytů. Prvním typem jsou vrozené trombocytopenie s malými destičkami, dále pak vrozené trombocytopenie s normálně velkými destičkami a poslední jsou vrozené trombocytopenie s velkými destičkami. Do každé z těchto skupin patří několik onemocnění. (Penka, 2011)

Příznaky

Příznaky se nejčastěji objevují již od dětského věku. Klinicky se projevují různě závažným spontánním krvácením, které probíhá celoživotně.

Mohou být provázeny i nehematologickými příznaky, mezi které patří imunodeficit, anomálie skeletu či vnitřních orgánů. (Indrák, 2007)

Klasifikace

Mezi vrozené trombocytopenie se zvýšeným krvácením, u kterých dochází k nedostatečné tvorbě destiček již v kostní dřeni patří Wiskottův – Aldrichův syndrom. Jedná se o recesivní X-vázané onemocnění, u kterého je hlavním projevem právě trombocytopenie, ale také ekzém a zvýšená náchylnost k infekčním onemocněním. V nátěru periferní krve nalézáme mikro trombocyty. Mezi další onemocnění patří Bernardův-Soulierův syndrom, u kterého dochází k porušení adheze destiček. Typické jsou nálezy obrovských trombocytů, kdy střední objem trombocytů je větší než 12fl. V neposlední řadě do této skupiny patří Chediakův-Higashiho syndrom, který je způsoben mutací genu LYST. Poslední chorobou tohoto typu je trombocytopenie s chyběním radia, označujeme jako TAR syndrom. (Kozák, 2015)

Mezi trombocytopenie s mírnými projevy řadíme vzácnou chorobu, jedná se o tzv. May – Hegglinovu anomálii. U této anomálie se vyskytují Döhleho inkluze v cytoplazmě leukocytů a trombopoéza je neefektivní. U tohoto onemocnění často dochází k chybně stanovené diagnóze a bývá zaměňována s chronickou formou ITP. K odlišení ITP se provádí vyšetření přežívání trombocytů, které je u ITP výrazně zkráceno. (Indrák, 2006)

2.4.1.2. Získané trombocytopenie

2.4.1.2.1. Imunitně podmíněné trombocytopenie

a) Idiopatická trombocytopenická purpura – ITP

Z imunitně podmíněných trombocytopenií patří mezi nejvýznamnější onemocnění. Má dvě formy akutní a chronickou. (Kozák, 2015)

Akutní idiopatická trombocytopenická purpura se objevuje většinou po působení nějaké infekce, nejčastěji virové. Rychlá destrukce trombocytů je vyvolána interakcí cirkulujících imunokomplexů (Ag–virová Ab) s trombocyty. Toto onemocnění se vyskytuje nejvíce u dětí ve věku 2-7 let a netrvá déle než půl roku. Počty krevních destiček většinou klesají pod $20 \times 10^9/l$. Pacient dostává intravenózně imunoglobuliny nebo kortikoterapii.

Až z 80 % dochází ke spontánní dlouhodobé remisi, pouze u zbylých 20 % pozorujeme recidivu. (Červinek, 2009)

Chronická idiopatická trombocytopenická purpura se vyskytuje spíše u dospělých kolem třicátého roku života. Příčinou tohoto onemocnění je nejspíše tvorba autoprotilátek proti destičkám. Abychom mohli říci, že se jedná o chronickou formu nemoci, musí trombocytopenie přetrvávat déle než 6 měsíců. (Červinek, 2009)

ITP nejčastěji doprovází petechiální krvácení, což znamená povrchové kožní nebo slizniční krvácení. U chronické formy se jedná o vleklý a různě intenzivní průběh. (Červinek, 2009)

b) ITP v těhotenství

Tento typ ITP se vyskytuje až u 7 % přijatých rodiček. Může se objevit jak forma imunitní, tak i neimunitní trombocytopenická purpura. V některých případech je popsána souvislost mezi ITP matky a nižším počtem destiček novorozence. Vyžaduje-li to situace podávají se kortikoidy nebo imunoglobuliny jak matce, tak novorozenci. (Starý, 2001)

c) Izoimunitní novorozenecká trombocytopenie

Asi u půl procenta novorozenců dochází ke vzniku trombocytopenické purpury, jenž je analogie hemolytické choroby novorozence. U několika procent těchto novorozenců dochází k mozkovému krvácení. Proti krvácení se aplikují gamaglobuliny a trombocytární náplavy. (Pearson, 1964)

d) Potransfuzní purpura

Potransfuzní purpura nastává zhruba za týden po aplikaci krve. Hodnoty trombocytů klesají pod $10 \times 10^9/l$. Málokdy je provázena fetálním krvácením. Vhodnou léčbou je podání intravenózních imunoglobulinů a plazmaferéza. (Penka, 2011)

e) Polékové trombocytopenie

Polékové trombocytopenie (DITP) jsou častým a pro pacienta závažným nežádoucím účinkem po podání léku. Objevují se obvykle po týdnu až deseti dnech při nepřetržitém požívání léku, při občasném podání po několika hodinách až dnech. Způsobuje je celá řada medikamentů. Prokázat to, že příčinou je lék, není vždy jednoduché.

Pokud má lékař podezření, že by to tak mohlo být doporučuje se lék raději vysadit a nahradit ho medikamentem z jiné skupiny. Pokud je potřeba, je možno nasadit kortikoterapii nebo aplikovat vysokodávkovaný intravenózní imunoglobulin. Jestli že je pacient ohrožen na životě, doporučuje se podání trombonáplavů. V současné době je vymezeno pět různých mechanismů vedoucích k DITP. (Kozák, 2015)

DITP – protilátky závislé na léku

Protilátka se váže na specifický epitop destičkových glykoproteinů (GP). Aby došlo k navázání musí být přítomné senzibilizující léčivo. Protilátky se totiž vyskytují v plazmě i bez předchozího užívání nebezpečného léku, avšak mají příliš nízkou afinitu ke konečnému epitopu. Nemůže dojít k samovolnému navázání na destičkový glykoprotein a způsobit tak imunitní trombocytopenii. Citlivý lék obsahuje určitý nabitý nebo hydrofobní strukturní prvek, díky kterému je možné navázání patologické protilátky na specifický epitop cílového glykoproteinu. Současně dochází k navázání protilátky přes Fab konce i na molekulu léku. Destičky opsonizované protilátkami jsou rychle rozpoznány makrofágy a dochází k fagocytóze. Proces fagocytózy nejčastěji probíhá ve slezině. (Kozák, 2015)

DITP – lékem indukované vazebné místo pro protilátky

U 0,1-2 % pacientů léčených inhibitory GP IIb/IIIa dochází k prudkému rozvoji těžké trombocytopenie. Tirobifan a eptifibatín se navážou na GP IIb/IIIa a způsobují strukturní změny tohoto glykoproteinového komplexu. Tento komplex je rozpoznán patologickými protilátkami z okolí a ty se velmi rychle navážou a způsobí imunitní destrukci destiček. (Kozák, 2015)

DITP – protilátky specifické pro lék

Abciximab je chimérický Fab fragment speciální pro GP IIIa, který brání reakci fibrinogenu s aktivovaným GP IIb/IIIa a blokuje tak shlukování trombocytů. Přibližně u 2 % pacientů se objeví trombocytopenie po první aplikaci léku a asi u 10-12 % po opakovaném podání. U některých pacientů se trombocytopenie objeví až po vytvoření protilátek po 6-8 dnech po podání abciximabu, což je způsobeno tím, že tento lék je v krvi přítomný ještě zhruba dva týdny po podání. (Kozák, 2015)

DITP – autoprotilátky navozené lékem

Lék může způsobit tvorbu autoprotilátek, které jsou schopny se navázat na trombocyty i bez přítomnosti určitého léku, což znamená, že trombocytopenie může zůstat i po přerušení léčby, tedy po vyloučení léku z organismu. Tímto mechanismem mohou trombocytopenii způsobit soli zlata, L-DOPA, prokainamid, penicilamid nebo sulfamethoxazol. (Kozák, 2015)

Speciální typem imunitně podmíněné trombocytopenie je heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT). Odlišuje se od ostatních tím, že se projevuje jen občasnými hemoragickými projevy a v klinickém i laboratorním obraze vedou projevy trombofilie. (Kozák, 2015)

f) Heparinem indukovaná trombocytopenie

Jedná se o komplikaci léčby heparinem, která buď je, nebo není doprovázena trombózou. Přesné údaje o výskytu nejsou známi, ale hovoří se o rozmezí mezi 1-30 % osob užívajících heparin. Při používání heparinu získávaných z vepřových sliznic a při užívání nízkomolekulárních heparinů je nemocnost HIT nižší. (Stehlíková, 2002)

Rozlišujeme dva typy HIT. Typ 1 vzniká na neimunitním podkladě a je provázen mírnou trombocytopenií. Interpretuje se přímým účinkem heparinu na trombocyty. Začíná hned první den, nebo krátce po aplikaci heparinu. Průběh je mírný, většinou stačí pouze vysazení heparinu. (Novotný, 2005)

Typ 2 má oproti typu 1 závažnější průběh a vzniká na imunitním podkladě. Nejspíše dochází ke vzniku autoprotilátek proti komplexu heparinu a destičkového faktoru 4, poté dochází k aktivaci trombocytů. Nastává mezi 5. až 15. dnem po zahájení léčby. Může vést až k ohrožení života a postihuje zhruba 1 % heparinizovaných osob. (Novotný, 2005)

Ve spojení s trombocytopenií může dojít ke krvácení a vzniku trombózy s případnou embolií. Trombózy mohou být jak žilní, tak tepenné. Průkaz HIT je nelehký a využívá především klinické údaje, spolu se zobrazovacími metodami. Pokaždé se jedná o laboratorní metody, které jsou časově náročné a mají různou specifitu a senzitivitu. Jedno z používaných vyšetření je stanovení uvolnění ¹⁴C-serotoninu SRA. Jedná se o izotopovou metodu, tudíž se snižuje možnost použití v běžném provozu.

Dalším výhodným vyšetřením je stanovení indukce agregace podávanou šarží heparinu anebo lze využít flow-cytometrického stanovení IgG/M s destičkami sdružených protilátek. Lze použít i ELISA test ke stanovení komplexu heparinu s PF4. (Novotný, 2005)

g) HIV asociovaná trombocytopenie

Jedná se o imunopatologii. Dochází ke vzniku protilátek proti trombocytům. (Jost, 1988) Základním principem léčby je virostatická terapie, případně IVIG nebo anti-D sérum. (Zandman-Goddar, 2002)

h) Jiné imunitní trombocytopenie

Vyskytují u všech autoimunitních chorob a chorob s poruchou imunity. Jsou součástí také v souvislosti s HLA neidentickými transfuzemi trombocytů. (Kozák, 2015)

ch) ITP u systémového lupusu erythematodes

Vyskytuje se asi u 5-15 % pacientů s SLE. ITP zde má charakter autoimunitní choroby nebo je imunokomplexovým onemocněním. Závažnost trombocytopenie kolísá v závislosti na aktivitě SLE. Léčba onemocnění je stejná jako terapie ITP. (Liu, 2013)

2.4.1.2.2. Neimunitně podmíněné trombocytopenie

a) Trombocytopenie z nedostatečné tvorby

Může nastat v důsledku útlaku, dysplazie nebo hypoplazie megakaryopoézy. S nepostačující trombopoézou se můžeme setkat u megaloblastické přestavby kostní dřevě, může nastat jako důsledek působení různých léků. Pokud léky vysadíme obvykle dochází k obnově tvorby destiček. Setkáváme se i se sníženou tvorbou trombocytů u alkoholiků, jelikož alkohol působí toxickým účinkem na dřevě. Nedostatek železa při podvýživě může také vést až k trombocytopenii. (Penka, 2011)

b) Trombocytopenie ze zvýšeného obratu a zániku destiček na periférii

Zvýšený obrat a konzumpce trombocytů

Trombotické mikroangiopatie

Do této kategorie patří několik onemocnění, hlavně trombotická trombocytopenická purpura (TTP), hemolyticko-uremický syndrom (HUS) a diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC).

Trombotická trombocytopenická purpura

Toto onemocnění vzniká v důsledku snížené aktivity enzymu metaloproteázy ADAMTS13. Tento enzym štěpí neobvykle velké multimery von Willebrandova faktoru (ULM vWF). Von Willebrandův faktor (vWF) je tvořen a ukládán v endoteliích a odtud putuje do krve v podobě velkých oligomerů. Tyto oligomery jsou v krevním řečišti štěpeny právě enzymem ADAMTS13. Když nedojde k tomuto štěpení vWF trombocyty více adherují k endotelu hlavně v arteriolách a kapilárách. Vznikají mikrotromby s malým obsahem fibrinu. Mezi další projevy patří orgánová ischemie, fragmentace erytrocytů při průchodu tímto prostředím, hemolýza a hemolytická anemie s přítomností schistocytů a trombocytopenie. Příčinou snížené aktivity enzymu ADAMTS13 je hlavně přítomnost autoprotilátky. Největší zastoupení vWF je v endotelu kapilár mozku a ledvinách. Charakteristicky se během TTP objevují poruchy vědomí, horečky, trombocytopenie a někdy dochází k renálnímu postižení. Počátečním mechanismem pro rozvoj TTP může být např. infekce, některé druhy léků, hormonální antikoncepce a těhotenství. (Penka, 2014)

Hemolyticko-uremický syndrom

Jedná se o onemocnění způsobené nadbytkem ULM vWF z důvodu toxického poškození endotelií hlavně v ledvinných arteriolách. Toxinem bývají nejčastěji produkty bakterií, hlavně *Escherichia coli* (sérotyp O157:H7) nebo *Shigelladysenteriae*. Souhrnně se jedná o takzvaný shiga toxin. Shiga toxin se váže na endotelie a způsobí vyplavení ULM vWF a rychlou adhezi destiček v poškozených místech s tvorbou trombu, který obsahuje větší množství fibrinu. Dochází ke krvavému průjmu a výsledkem je akutní selhání ledvin, doprovázené hemolytickou anemií se schistocyty a trombocytopenií. (Bláhová, 2000)

Diseminovaná intravaskulární koagulace

Jedná se o syndrom, jehož původem je obvykle těžký stav jako je např.: těžká infekce se sepsí, operace aj. Dochází k aktivaci koagulace se selháním přirozené inhibice a spotřebně koagulačních faktorů včetně fibrinogenu a trombocytů což způsobuje těžké krvácení. Při DIC je obvykle prodloužený protrombinový čas, snížená hladina fibrinogenu a vysoká hladina degradačních faktorů fibrinu. Současně dochází ke klesání počtu trombocytů. Pokud se prokážou všechny tyto skutečnosti, může se jednat o akutní DIC. Ovšem existuje také chronická DIC, která je obvykle spojena s okultním zhoubným onemocněním, nejčastěji s adenokarcinomem. (Penka, 2003)

Specifické komplikace těhotenství spojené se zvýšenou spotřebou trombocytů

Gestační trombocytopenie

Patří mezi nejčastější příčiny trombocytopenie v těhotenství a objevuje se asi u 5-10 % těhotenství. Projevuje se lehkou trombocytopenií bez krvácení a dalších významných malignit. Nastává obvykle ve třetím trimestru. Odezdnívá spontánně po porodu. (Zdeněk, 2004)

HELLP syndrom

Postihuje přibližně 0,1-0,8 % těhotných a další komplikace se objevují u 10-20 % těhotných s preeklampsií nebo eklampsií. Patogeneze je zatím neobjasněná, podle všeho se na ní podílejí abnormality ve vývoji placenty a systémové zánětlivé reakce s aktivací komplementu. U malého množství těhotných dochází k deficitu dehydrogenázy 3-hydroxyacyl-CoA u plodu. Laboratorní testy ukazují zvýšené AST, bilirubin a známky hemolýzy včetně vysoké hladiny LDH a nízké hladiny haptoglobinu a trombocytů. Pokud je zjištěno toto onemocnění žena musí podstoupit porod do 48 hodin, což je řešením této komplikace. (Šimetka, 2013)

Akutní steatóza jater v těhotenství

Vzniká jako důsledek deficitu mitochondriální β -oxidace mastných kyselin a tvorby 3-hydroxyacyl-CoA u plodu. Neoxidované metabolity mastných kyselin způsobují toxické poškození jater ženy. (Penka, 2011)

a) Trombocytopenie z abnormální redistribuce destiček

Onemocnění sleziny

Za fyziologických podmínek je ve slezině uložena asi třetina celkového množství destiček. Pokud je potřeba, slezina uvolní zásobní množství destiček do krve. Za patologických podmínek to ovšem takto nefunguje, protože slezina začne odstraňovat poškozené trombocyty. Dochází k hypersplenizmu neboli ke zvětšení sleziny. Hodnoty destiček jsou kolem $20 \times 10^9/l$ a jsou výrazně menší. (Penka, 2011)

Hypotermie

Pokud se destičky nacházejí v teplotě pod $37\text{ }^\circ\text{C}$ změni svůj tvar a své povrchové vlastnosti. Zpočátku jsou tyto změny vratné, avšak dlouhodobým působením nízkých teplot se stávají nevratné. K takovému poškození může dojít například u kryoterapie. (Kozák, 2015)

b) Diluční trombocytopenie

Nastává při masivních transfuzích, pokud dojde k celkové výměně krevního řečiště během 24 hodin. Doporučuje se sledovat jak destičky, tak základní koagulace. (Kozák, 2015)

2.5. Pseudotrombocytopenie

Jedná se o falešně snížený počet krevních destiček pod $150 \times 10^9/l$, ke kterému dochází *in vitro*. (Kovacs, 2016)

Nejčastější příčinou pseudotrombocytopenie je přítomnost přirozených protilátek, které reagují s trombocyty jedine v přítomnosti EDTA v pokojové teplotě. Obvykle se jedná o protilátky typu IgG, ojediněle IgM. (Bizzaro, 2013)

Další možnou příčinou je nevhodně zvolené antikoagulační činidlo ve zkumavce na krevní obraz. Ve zkumavce vznikají shluky trombocytů, které jsou způsobeny trombinem. Může dojít k falešnému vyhodnocení těchto shluků jako leukocyty. Analyzátor tedy ukáže lehce zvýšené hladiny leukocytů a snížené hladiny trombocytů. (Penka, 2011)

Zřídka se pseudotrombocytopenie vyskytuje při spontánní tvorbě trombocytů kolem neutrofilů a monocytů. O takovémto útvaru říkáme, že se jedná o destičkový satelitismus. Falešně snížené počty trombocytů byli popsány i po aplikaci abcimabu. Jedná se o monoklonální protilátky namířené proti receptoru GP IIb/IIIa. K ověření falešných hodnot destiček, se provede nátěr na sklíčko a hodnotí se přítomnost shluků trombocytů. Provede se odběr do speciální zkumavky na trombocyty. (Kozák, 2015)

3. Cíl práce a hypotézy

Cílem mé bakalářské práce je porovnání počtu trombocytů u odběrů krve na trombocyty do zkumavek s antikoagulačními činidly K₃EDTOU a ThromboExactem u 100 testovaných pacientů s trombocytopenií, tj. hodnoty krevních destiček jsou nižší než $150 \times 10^9/l$.

Určíme, u kolika procent pacientů s trombocytopenií dochází k falešnému snížení počtu trombocytů tzv. pseudotrombocytopenii a tím usnadnění či oddálení léčby pacienta.

Předpokládáme, že u pacientů s onkologickou nebo hematologickou diagnózou budou statisticky významnější vzestupy hodnot trombocytů u odběrů do ThromboExactu, než u ostatních pacientů, ať již z důvodu nacházejících se protilátek v krvi nebo díky právě probíhajícímu onemocnění a léčbě.

Doufám, že můj výzkum prokáže statisticky významné procento pseudotrombocytopenie a pomůže tak zamezení falešně nízkých hodnot trombocytů a nesprávných diagnóz.

4. Metodika

4.1. Odběr krve pro stanovení počtu trombocytů

- odběr krve se provádí do zkumavky s antikoagulačním činidlem K₃EDTA (firma Vacuette – fialový uzávěr, firma Sarstedt – červený uzávěr)

- při odběru krve je nutné zachovat správný poměr krve a antikoagulačního činidla, odběrová zkumavka musí být naplněna po rysku

- vzorek se po odběru musí řádně promíchat, nelze provést vyšetření bezprostředně po odběru – je nutné vyčkat nejméně 15 min, aby došlo ke vzájemnému vyrovnání koncentračních gradientů vně a uvnitř krvinky

- maximální doba pro zpracování vzorku jsou 4 hodiny při 20 °C (Matějková, 2017)

4.2. Stanovení počtu trombocytů

Stanovení jsem prováděla na analyzátoru řady Sysmex XN.

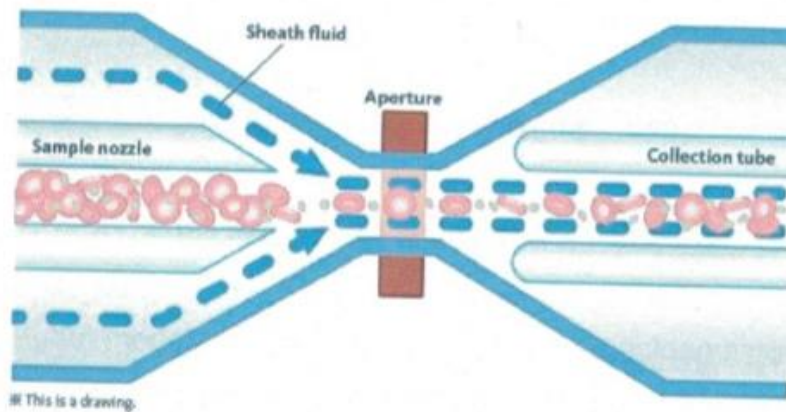
4.2.1. Princip stanovení počtu trombocytů na analyzátoru Sysmex XN

Přístroj stanovuje trombocyty podle principu *hydrodynamické fokusace*. Jedná se o detekci na základě impedanční metody s usměrněním částic proudem nosné kapaliny DC. Část nasáté krve se oddělí a naředí ředícím roztokem v předem určeném poměru. Z tohoto roztoku putuje určité množství do detekční komory a tam projde malým otvorem, který označujeme jako aperturu. Apertura má na obou svých koncích elektrody, kterými prochází stejnosměrný proud. Odpor stejnosměrného proudu mezi elektrodami se mění při průchodu krevních buněk, suspendovaných v ředícím roztoku, aperturou. Odpor vyvolá změnu elektrického pulzu úměrnou velikosti krvinky.

Tyto elektrické údaje se převedou na grafické zobrazení distribuční křivky objemu nebo histogramy.

Poté co krvinky opustí ústí trubice pro vzorky, obklopí je nosná kapalina ředícího roztoku. Dojde k jejich seřazení s předou do středu otvoru. Tímto se sníží interferenční chyby a možnost detekce pulzu abnormálních buněk, k čemuž může docházet kvůli tomu, že buňky procházejí převodníkem excentricky.

Poté co krvinky projdou ústím, zachytí je inverzní proud a okamžitě je odvede k odtoku. Tím se zabrání opakované cirkulaci a změně počtu krevních destiček. (Šmídová, Dudková, 2017)

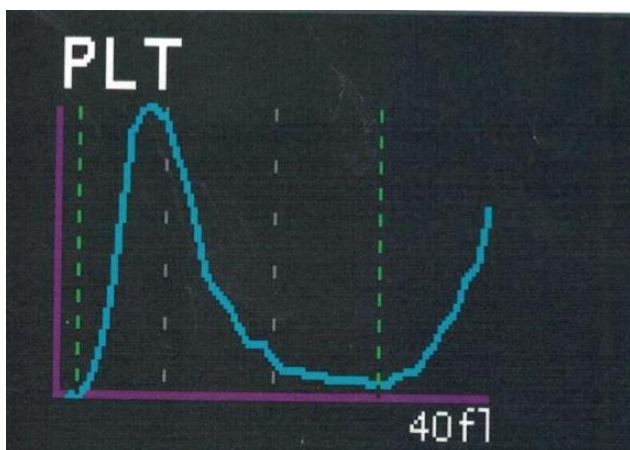


Obrázek 2 – Hydrodynamická fokusace (Šmídová J., Dudková I., 2017)

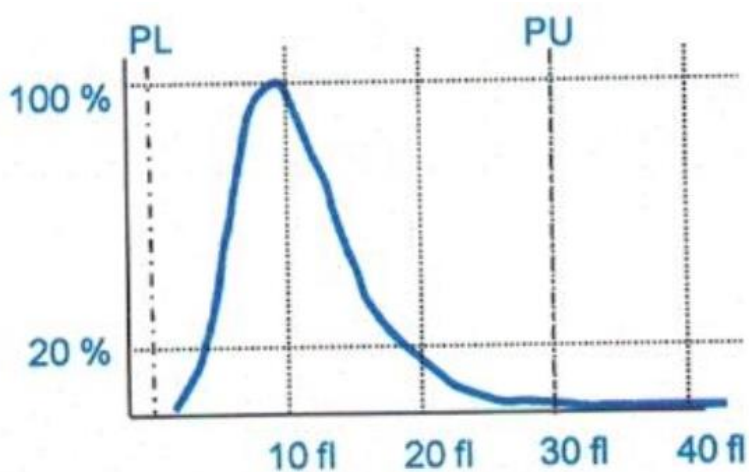
4.2.2. Postup

- 1) správně odebraný a označený vzorek umístíme na třepačku, aby došlo ke správnému promísení krve s antikoagulačním činidlem
- 2) podle žádanky zapíšeme pacienta do laboratorního informačního systému
- 3) laboratorní informační systém nám vygeneruje čárový kód pro každého pacienta
- 4) nalepíme čárový kód se jménem a rodným číslem na označenou zkumavku také těmito údaji
- 5) vložíme polepenou zkumavku do stojánku a dáme do přístroje
- 6) spustíme přístroj a ten nám přepoše výsledek do laboratorního informačního systému
- 7) výsledek pozorujeme i v analyzátoru, pokud se ve vzorku nacházejí neobvyklé buňky analyzátor na to upozorní a je na nás následná kontrola (Matějková, 2017)

4.2.3. Interpretace výsledku z analyzátoru



Obrázek 3 – Normální histogram (Šmídová J., Dudková I., 2017)



Obrázek 4 – Normální histogram (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- křivka začíná a končí na základní ose mezi hraničními diskriminátory
- trombocyty velikosti 8–12 fl jsou počítány mezi liniemi 2 a 30 fl

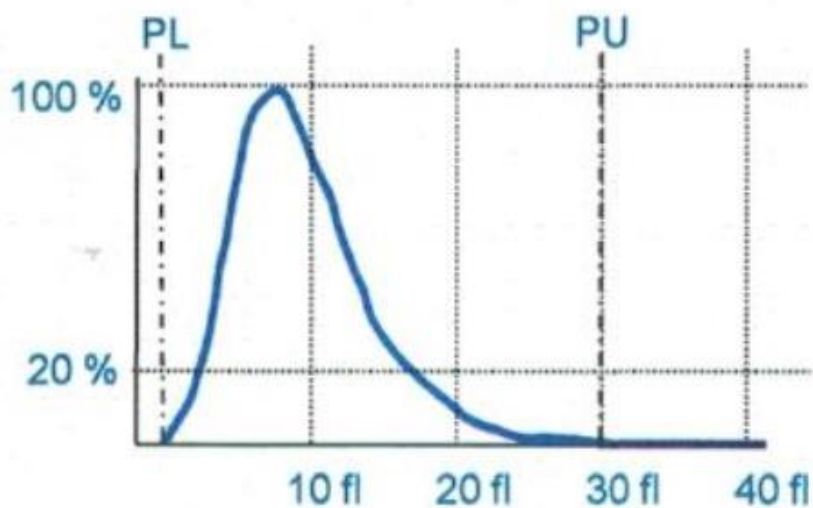
$$MPV = \frac{PCT}{PLT}$$

MPV – střední objem trombocytů

PLT – počet trombocytů

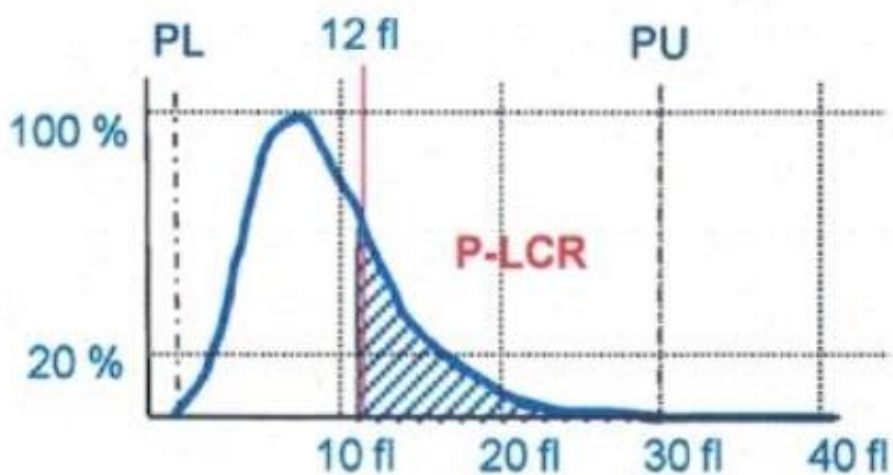
PCT – destičkový hematokrit

- normální hodnoty MPV jsou 8–12 fl



Obrázek 5 – Poměr objemu destiček k celkovému objemu krve (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- normální rozmezí 0,16 – 0,38 %

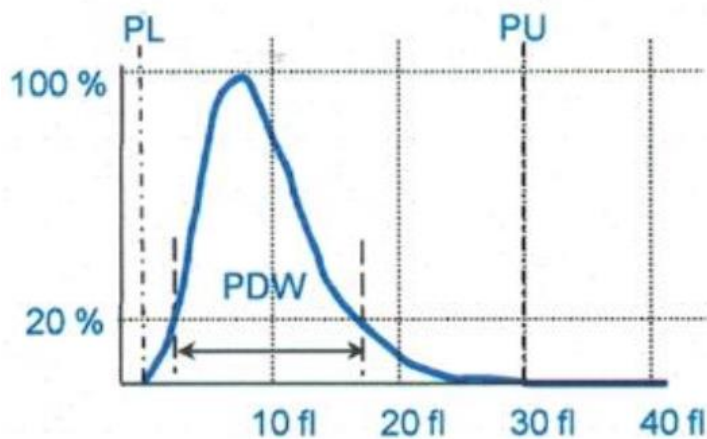


Obrázek 6 – P-LCR – poměr velkých trombocytů (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- u PCT > 12 fl

- normální rozmezí 15–35 %

- P-LCR se může spolu s MPV vztahovat na přítomnost nezralých trombocytů



Obrázek 7 – PDW – distribuční šíře trombocytů (Šmídová J., Dudková I., 2017)

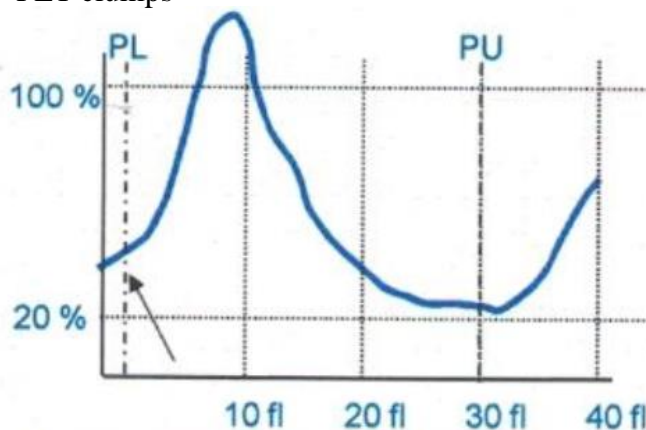
- normální rozmezí 9–14 fl
- zvýšené PDW může být znakem anisocytózy trombocytů
- pokud se přístroji nějaké krvinky zdají neobvyklé, nahlásí to

Hlášení abnormality

- PLT Abn distribution - abnormální výška u dolního diskriminátoru
 - abnormální výška u horního diskriminátoru
 - P-LCR > 43 %
- thrombocytopenia – $PLT < 60 \times 10^9/l$
- thrombocytosis – $PLT > 600 \times 10^9/l$
- Abn PLT Scattergram

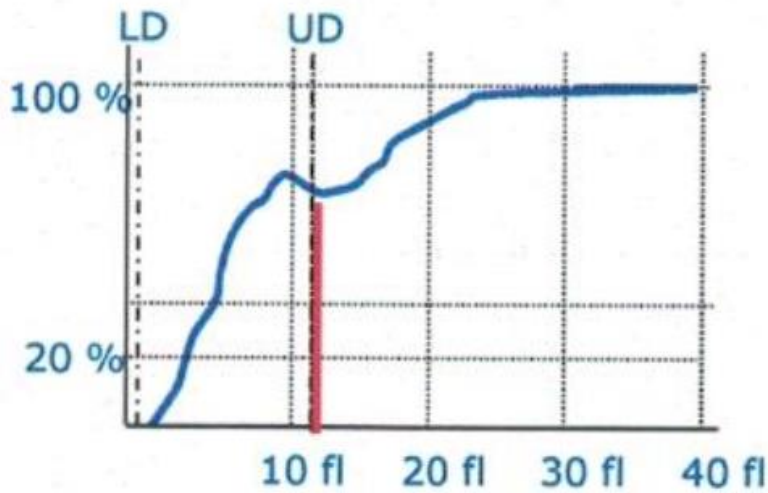
Suspektní hlášení

- PLT clumps



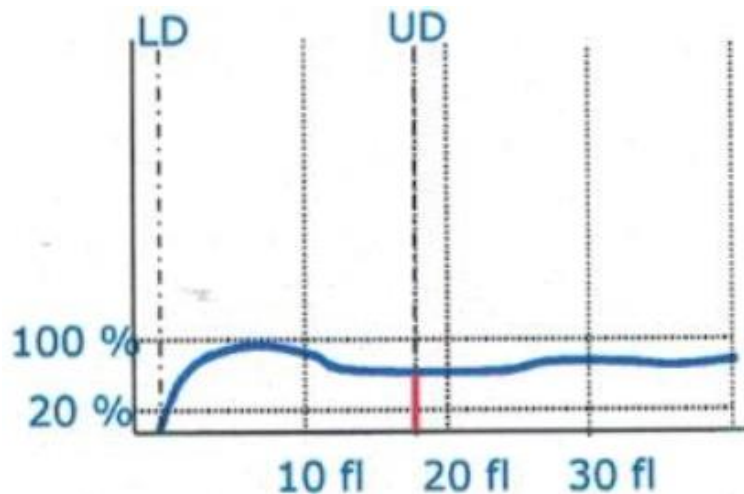
Obrázek 8 – Abnormální výška u dolního diskriminátoru (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- možné příčiny - vysoké pozadí měření
 - přítomnost fragmentů buněk
 - bakteriální elementy



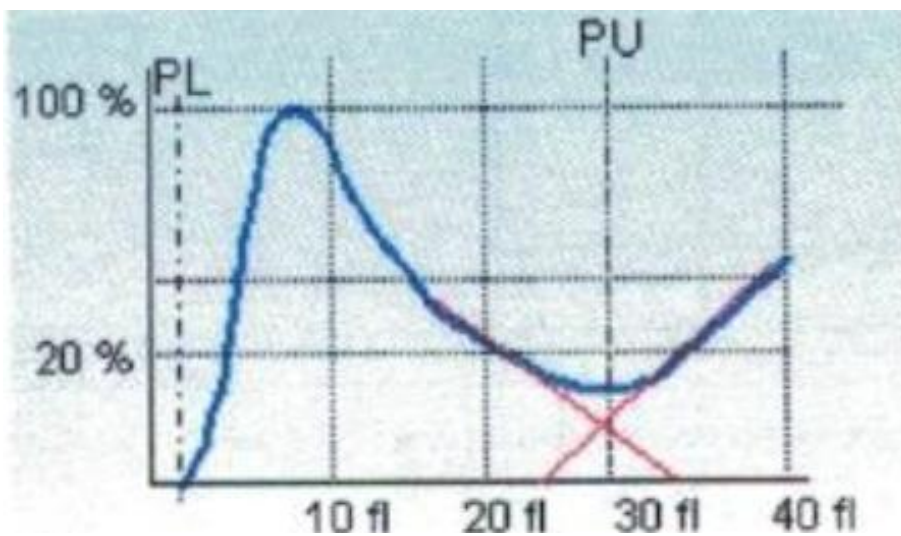
Obrázek 9 – Abnormální výška u horního diskriminátoru (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- PLT křivka je ovlivněna přítomností abnormálních RBC
 - možné příčiny – fragmentocyty
 - mikrocyty

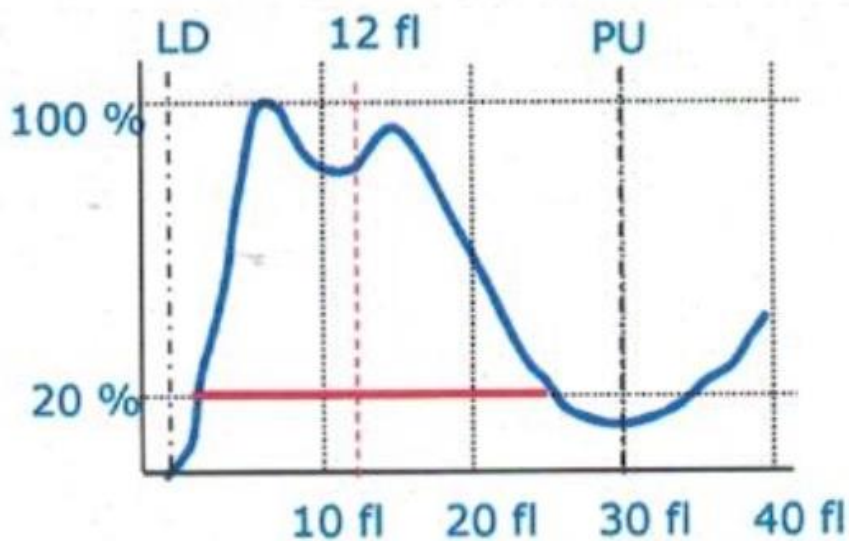


Obrázek 10 – PLT abnormální distribuce (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- velmi časté - pokud jsou nižší počty trombocytů
- možná příčina – přítomnost velkých destiček



Obrázek 11 – Překrytí populací PLT/RBC (Šmídová J., Dudková I., 2017)



Obrázek 12 – Vysoké hodnoty P-LCR (Šmídová J., Dudková I., 2017)

- hodnoty P-LCR > 43 %
- možná příčina – rekonstrukce kostní dřeně
 - podání velkých dávek trombo koncentrátů

4.3. Mikroskopické vyšetření trombocytů

4.3.1. Princip

Nátěr obarvený panoptickou metodou se hodnotí pod mikroskopem při 1000x násobném zvětšení. Zjišťují se morfologické odchylky a anomálie trombocytů.

4.3.2. Materiál

Podložní a krycí sklíčko (roztěrové), špejle, skleněné kyvety pro barvicí lázeň, odměrný válec, imerzní olej, gáza, ether.

4.3.3. Reagencie

1. May-Grünwald

- složení: eozin, metylenová modř pro mikroskopii, metylalkohol, glycerol

2. Giemsa – Romanovski

- složení: azureozin II, azur II, glycerol, metylalkohol

3. 1% dihydrogenfosforečnan sodný (Marshall, 1978)

4.3.4. Příprava barev

1. lázeň - neředěný roztok May-Grünwald

2. lázeň- 10 ml Giemsa-Romanovski + 90ml deionizované vody

3. lázeň– 1% dihydrogenfosforečnan sodný (Marshall, 1978)

4.3.5. Zhotovení krevního nátěru

1) na podložní sklíčko kápneme kapku krve ze zkumavky

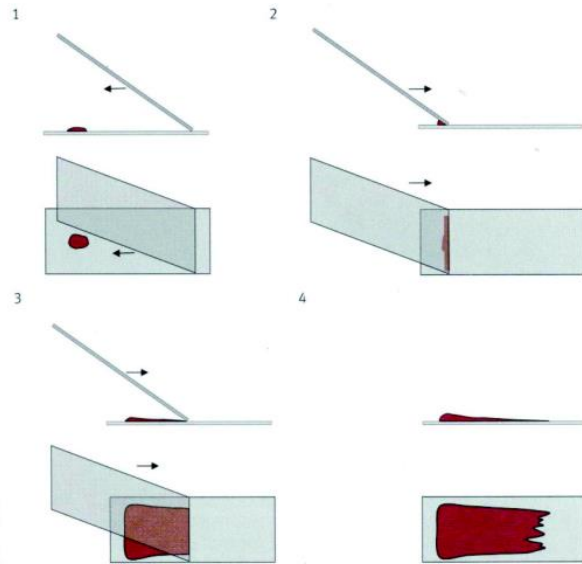
2) krycí sklíčko přiložíme pod úhlem 30-40° před kapku, pomalým táhlým pohybem se přiblížíme ke kapce, dokud se nerozprostře po celé ploše krycího sklíčka

3) lehkým a jedním tahem provedeme nátěr ke konci podkladového skla, nátěr musí být celistvý, rovnoměrný a přiměřeně tenký, na konci by měl přecházet do ztracena

4) hotový nátěr necháme na vzduchu zaschnout

5) suchý nátěr označíme datem, jménem pacienta a laboratorním číslem

6) provedeme barvení (Hrubíško, 1981)



Obrázek 13 – Technika krevního nátěru (Mischke, R., 2005)

4.3.6. Barvení

1. lázeň

– May-Grünwald 3 min (bez oplachu)

2. lázeň

– Giemsa-Romanovski10 min

3. lázeň

– 1% dihydrogenfosforečnan sodný ... (opláchneme a necháme oschnout)

(Matějková, 2017)

4.3.7. Hodnocení nátěru

- suchý nabarvený preparát zakápneme kapkou imerzního oleje a vložíme do mikroskopu při 1000x násobném zvětšení

- nejprve zaostříme makrošroubem a následně použijeme mikrošroub aby byl obraz v mikroskopu úplně čistý

- nátěr se projíždí meandrovitě

- hledají se anomálie krevních destiček

- hodnotí se v zeslabené části nátěru a to nejméně na 10 polí (Pecka, 1995)

- hodnotíme:

A) změny počtu

- trombocytopenie – pokles

- trombocytóza – zvýšení

B) změna velikosti

- mikrotrombocyty – malé trombocyty

- makrotrombocyty – velké trombocyty (velikost erytrocytu)

- megalotrombocyty – gigantické trombocyty (velikost až leukocyty)

C) jiné změny

- anizocytoza – trombocyty různých velikostí

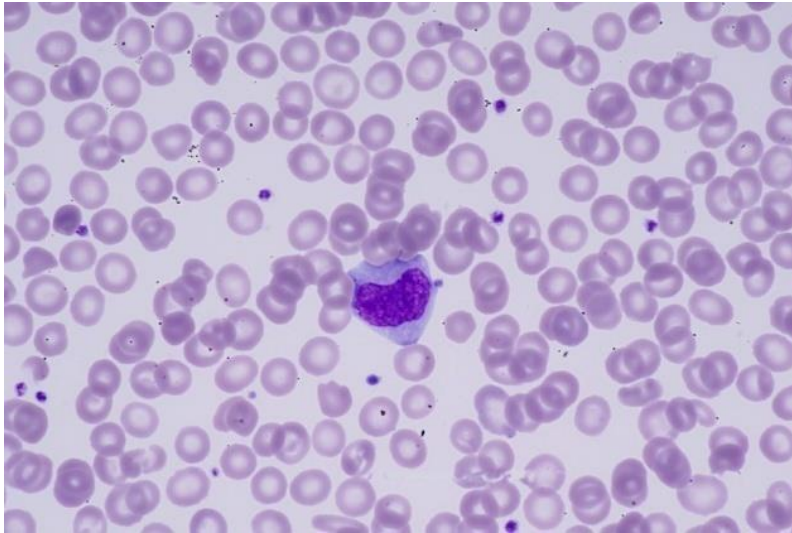
- satelitismus trombocytů – trombocyty se zdržují bezprostředně v blízkosti buňky

- agregace trombocytů – může být způsobena špatným odběrem

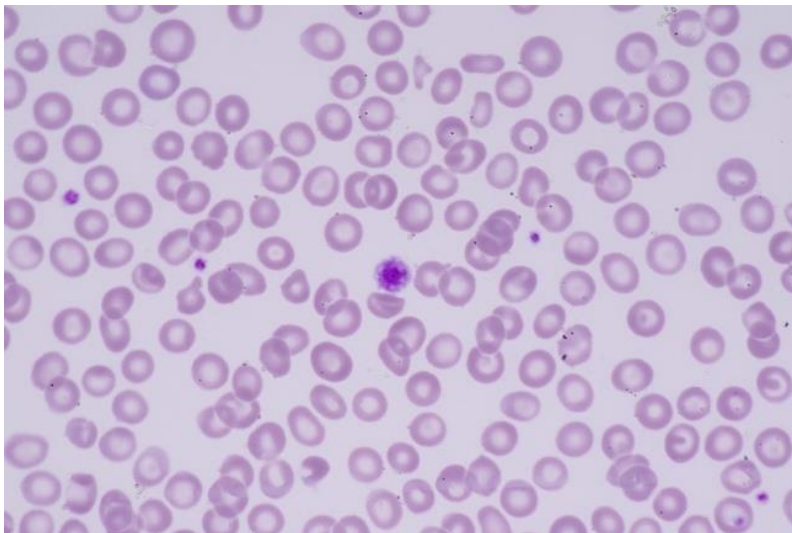
– může být ukazatelem pseudotrombocytopenie

– v takovém případě požádáme nový odběr do speciální

zkumavky s TromboExactem (Penka, 2011)



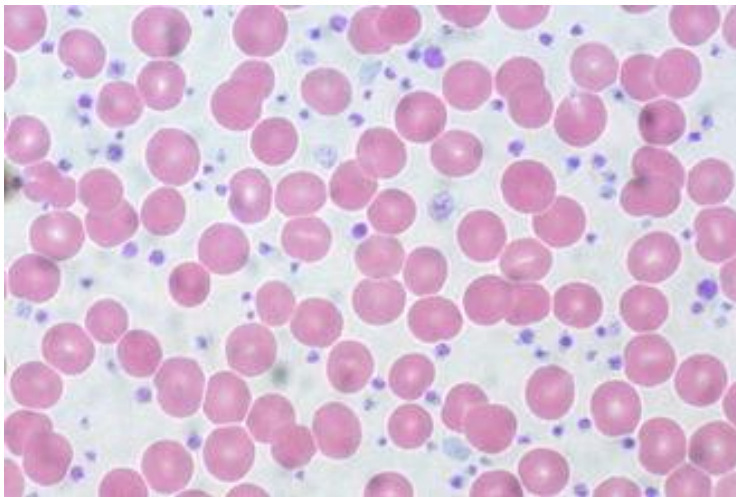
Obrázek 14 – Normální nátěr (Mikulenková, D., 2016)



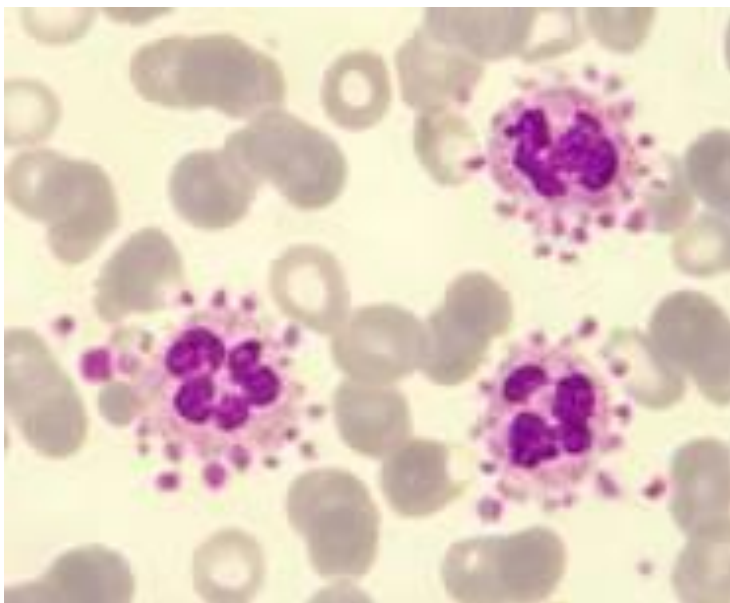
Obrázek 15 – Makrotrombocyt (Mikulenková, D., 2016)



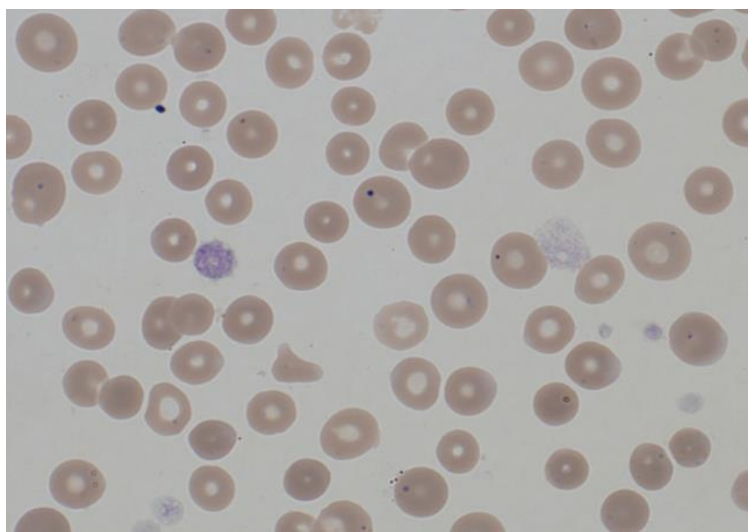
Obrázek 16 – Megalotrombocyt (Mikulenková, D., 2016)



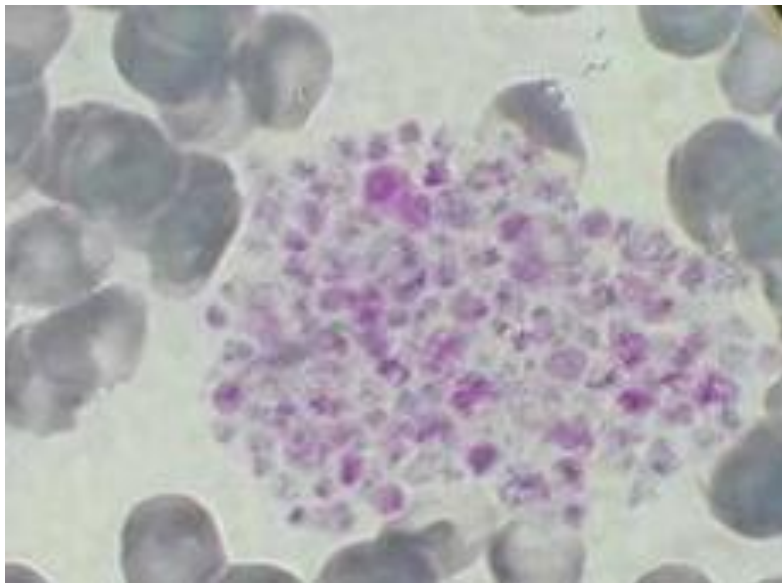
Obrázek 17 – Trombocytóza (Osaro, E., 2014)



Obrázek 18 – Destičkový satelitismus (Pecka, M. 2006)



Obrázek 19 – Anisocytóza (Mikulenková, D., 2016)



Obrázek 20 – Shluky trombocytů (zdroj vlastní)

4.4. Odběr krve do ThromboExactu

Zkumavka s antikoagulačním činidlem tvz. ThromboExactem je vhodná při podezření na pseudotrombocytopenii. Tuto zkumavku dodává pouze firma Sarstedt.

Odběr krve do ThromboExactu se provádí pokud:

- pokud jsou hodnoty trombocytů naměřené v analyzátoru pod $150 \times 10^9/l$
- nalézáme shluky trombocytů při mikroskopickém vyšetření
- pokud krev není sražená (Matějková, Pilousková, 2017)

4.5. Složení ThromboExactu

Zkumavka ThromboExact obsahuje $MgSO_4$. Již od počátku minulého století jsou známy jeho antikoagulační účinky. Hořčík se stal známí jako elektrolyt s antikoagulačními vlastnostmi, a byl zkoumán v klinické medicíně. Hořčík interferuje s vazbou fibrinogenu na kolagenem stimulované destičky a zjevně má potenciál inhibovat intracelulární mobilizaci Ca^{2+} a tvorbu tromboxanu ve stimulaci trombocytů. (Mannuβetl, 2016.)

V mé bakalářské práci jsem porovnávala hladiny trombocytů nabrané do K_3EDTY a do ThromboExactu.

5. Výsledky

Výzkum byl proveden u 100 pacientů, u kterých byla porovnána hladina trombocytů ve zkumavkách s činidlem K₃EDTA a v ThromboExactu. Kompletní tabulka všech výsledků je k nahlédnutí v příloze.

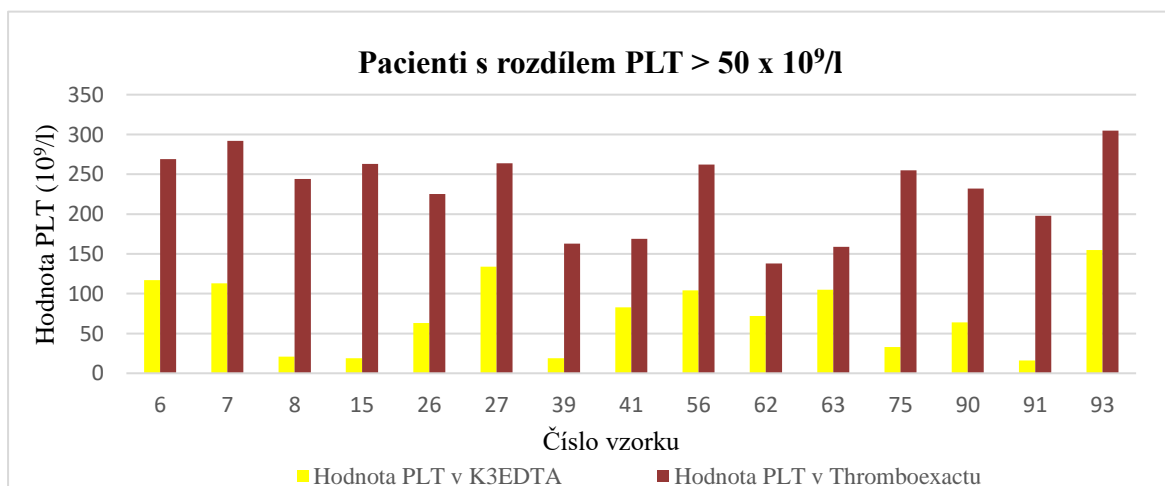
5.1. Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l

U těchto pacientů byl rozdíl hodnot naměřených v K₃EDTA a v ThromboExactu vyšší než 50 x 10⁹/l. Výzkum prokázal, že pacienti trpí pseudotrombocytopenií a odběrem do speciální zkumavky došlo k úpravě počtu trombocytů.

Tabulka 1 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l

| Číslo vzorku | Hodnota PLT v K ₃ EDTA (10 ⁹ /l) | Hodnota PLT v Thromboexactu (10 ⁹ /l) | Rozdíl PLT | Oddělení |
|--------------|--|--|------------|---------------|
| 6 | 117 | 269 | 152 | Onkologie |
| 7 | 113 | 292 | 179 | Onkologie |
| 8 | 21 | 244 | 223 | Hematologie |
| 15 | 19 | 263 | 244 | Urologie |
| 26 | 63 | 225 | 162 | Hematologie |
| 27 | 134 | 264 | 130 | Hematologie |
| 39 | 19 | 163 | 144 | Gynekologie |
| 41 | 83 | 169 | 86 | Akutní příjem |
| 56 | 104 | 262 | 158 | Onkologie |
| 62 | 72 | 138 | 66 | Akutní příjem |
| 63 | 105 | 159 | 54 | Hematologie |
| 75 | 33 | 255 | 222 | Onkologie |
| 90 | 64 | 232 | 168 | Onkologie |
| 91 | 16 | 198 | 182 | Gynekologie |
| 93 | 155 | 305 | 150 | Hematologie |

Graf 1 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l



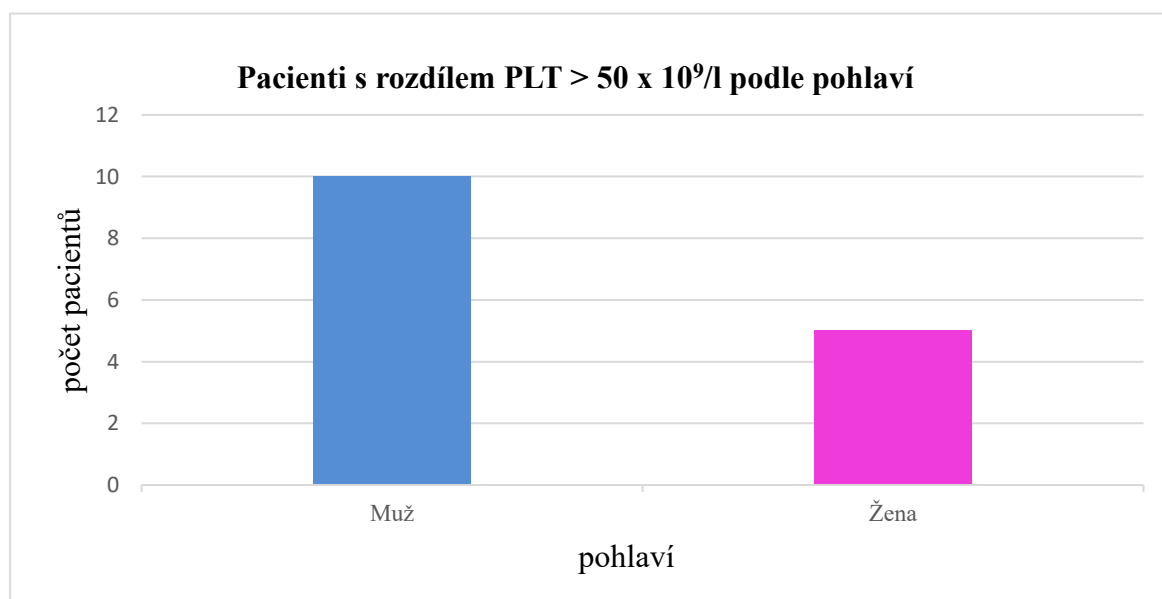
5.2. Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle pohlaví

Rozdělení pacientů s rozdílem PLT více než 50 x 10⁹/l podle pohlaví prokázalo, že častěji se trombocytopenie vyskytuje u mužů než u žen.

Tabulka 2 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle pohlaví

| Číslo vzorku | Hodnota PLT v K ₃ EDTA (10 ⁹ /l) | Hodnota PLT v Thromboexactu (10 ⁹ /l) | Rozdíl PLT | Pohlaví |
|--------------|--|--|------------|---------|
| 6 | 117 | 269 | 152 | Muž |
| 7 | 113 | 292 | 179 | Muž |
| 8 | 21 | 244 | 223 | Žena |
| 15 | 19 | 263 | 244 | Žena |
| 26 | 63 | 225 | 162 | Muž |
| 27 | 134 | 264 | 130 | Muž |
| 39 | 19 | 163 | 144 | Muž |
| 41 | 83 | 169 | 86 | Žena |
| 56 | 104 | 262 | 158 | Muž |
| 62 | 72 | 138 | 66 | Muž |
| 63 | 105 | 159 | 54 | Žena |
| 75 | 33 | 255 | 222 | Muž |
| 90 | 64 | 232 | 168 | Muž |
| 91 | 16 | 198 | 182 | Žena |
| 93 | 155 | 305 | 150 | Muž |

Graf 2 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle pohlaví



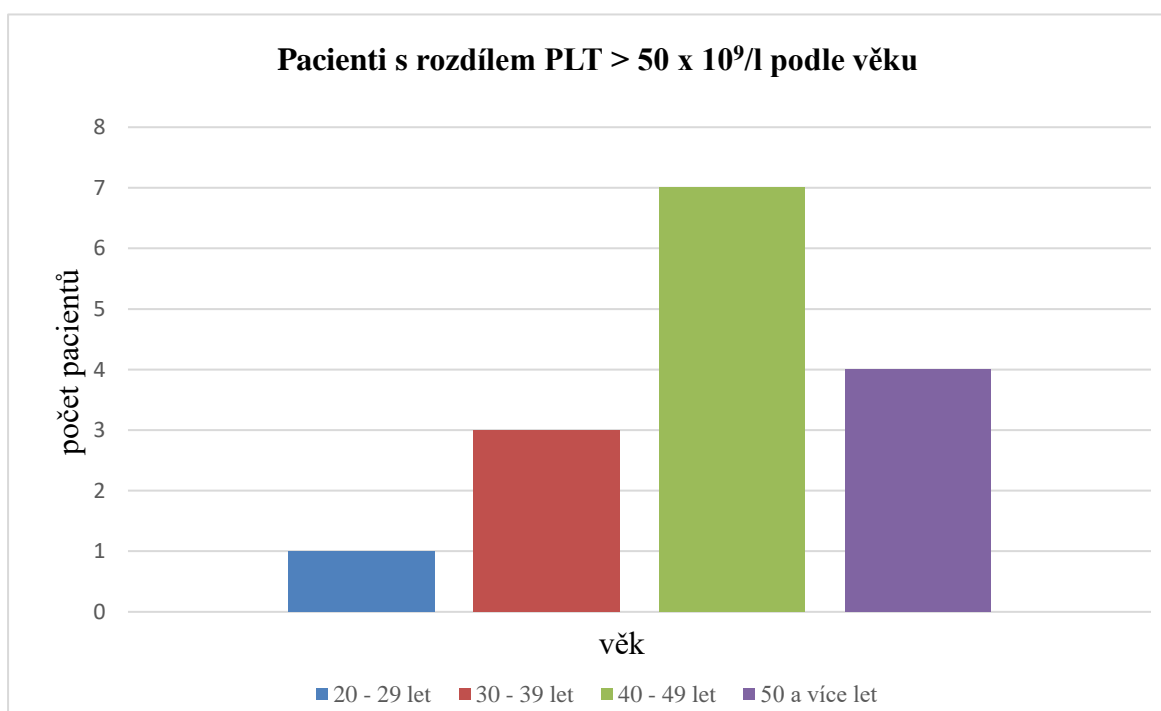
5.3. Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle věku

Rozdělení pacientů s rozdílem PLT více než 50 x 10⁹/l podle věku prokázalo, že nejčastěji se pseudotrombocytopenie vyskytuje u pacientů ve věku 41–50 let.

Tabulka 3 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle věku

| Číslo vzorku | Hodnota PLT v K ₃ EDTA (10 ⁹ /l) | Hodnota PLT v Thromboeactu (10 ⁹ /l) | Rozdíl PLT | Věk |
|--------------|--|---|------------|-----|
| 6 | 117 | 269 | 152 | 39 |
| 7 | 113 | 292 | 179 | 48 |
| 8 | 21 | 244 | 223 | 43 |
| 15 | 19 | 263 | 244 | 52 |
| 26 | 63 | 225 | 162 | 45 |
| 27 | 134 | 264 | 130 | 46 |
| 39 | 19 | 163 | 144 | 65 |
| 41 | 83 | 169 | 86 | 53 |
| 56 | 104 | 262 | 158 | 49 |
| 62 | 72 | 138 | 66 | 50 |
| 63 | 105 | 159 | 54 | 37 |
| 75 | 33 | 255 | 222 | 22 |
| 90 | 64 | 232 | 168 | 39 |
| 91 | 16 | 198 | 182 | 47 |
| 93 | 155 | 305 | 150 | 49 |

Graf 3 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle věku



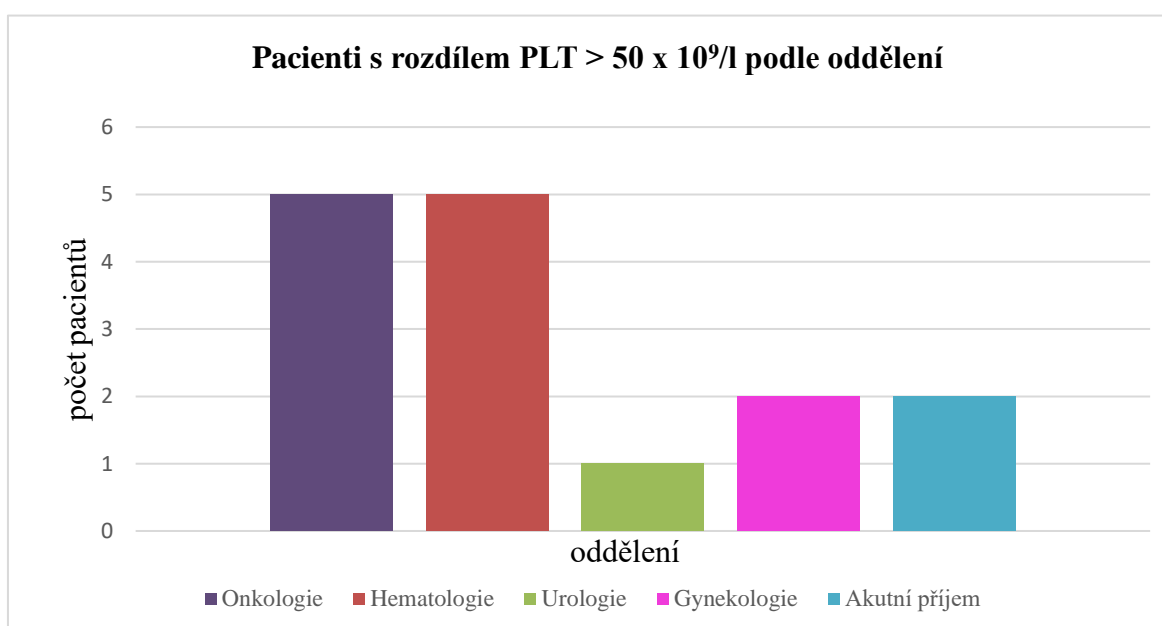
5.4. Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle oddělení

Rozdělení pacientů s rozdílem PLT více než 50 x 10⁹/l podle oddělení prokázalo, že nejčastěji se pseudotrombocytopenie vyskytuje u pacientů z Onkologie a Hematologie. Tento výskyt je pravděpodobně dán jednak právě probíhající chemoterapií nebo medikamenty.

Tabulka 4 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle oddělení

| Číslo vzorku | Hodnota PLT v K ₃ EDTA (10 ⁹ /l) | Hodnota PLT v Thromboeactu (10 ⁹ /l) | Rozdíl PLT | Oddělení |
|--------------|--|---|------------|---------------|
| 6 | 117 | 269 | 152 | Onkologie |
| 7 | 113 | 292 | 179 | Onkologie |
| 8 | 21 | 244 | 223 | Hematologie |
| 15 | 19 | 263 | 244 | Urologie |
| 26 | 63 | 225 | 162 | Hematologie |
| 27 | 134 | 264 | 130 | Hematologie |
| 39 | 19 | 163 | 144 | Gynekologie |
| 41 | 83 | 169 | 86 | Akutní příjem |
| 56 | 104 | 262 | 158 | Onkologie |
| 62 | 72 | 138 | 66 | Akutní příjem |
| 63 | 105 | 159 | 54 | Hematologie |
| 75 | 33 | 255 | 222 | Onkologie |
| 90 | 64 | 232 | 168 | Onkologie |
| 91 | 16 | 198 | 182 | Gynekologie |
| 93 | 155 | 305 | 150 | Hematologie |

Graf 4 – Pacienti s rozdílem PLT > 50 x 10⁹/l podle oddělení



6. Diskuze

V mé bakalářské práci jsem porovnávala odběry krve do zkumavky s antikoagulačními činidly K₃EDTOU a s ThromboExactem.

U pacientů, kteří měli hodnoty krevních destiček nižší než $150 \times 10^9/l$, jsem si vyžádala nový odběr do zkumavky s ThromboExactem, abych porovnávala, zda se počty trombocytů zvýší, či nikoliv.

Měření jsem provedla u 100 testovaných osob s trombocytopenií a z toho u 15 osob se prokázala pseudotrombocytopenie – hodnoty trombocytů se novým odběrem zvedly o více než $50 \times 10^9/l$. Prokázali jsme tedy 15 % úspěšnost našeho průzkumu.

Dále jsme rozdělili pacienty z prokázanou pseudotrombocytopenií do různých skupin podle pohlaví, věku a oddělení, odkud k nám byl materiál zaslán.

Porovnáním výsledků rozdělených podle pohlaví jsme zjistili, že pseudotrombocytopenie se vyskytuje u 10 mužů a 5 žen z celkových 100 testovaných pacientů. Tato skutečnost mohla být však způsobena tím, že v celkovém počtu testovaných pacientů převládali právě muži.

Rozdělení testovaných pacientů podle věku a oddělení nám spolu souvisí. Prokázali jsme, že pseudotrombocytopenie, se nejčastěji objevuje u lidí mezi 41-50 rokem života, což úzce souvisí s tím, že právě tato věková skupina pacientů k nám byla zasílána nejvíce z onkologických a hematologických oddělení. Právě u těchto oddělení jsme prokázali největší zastoupení pseudotrombocytopenie. Tento fakt může souviset s právě probíhajícím onemocněním a jeho léčbou u testovaných pacientů.

7. Závěr

V mé bakalářské práci jsem zjistila, že pseudotrombocytopenie se vyskytuje u 15 % testovaných pacientů. Tito pacienti byli nejčastěji muži ve věku 41-50 let, nacházející se buď na onkologických nebo hematologických oddělení.

Cílem mé bakalářské práce bylo určit, jak statisticky významný je vyžádaný nový odběr do ThromboExactu. Myslím, že 15 % úspěšnost je celkem vysoká. Pokud bychom vzali v úvahu, že by se odběr do ThromboExactu vůbec neprováděl, mohlo by dojít k falešným výsledkům, a tedy i špatně určené diagnóze.

Každé oddělení by mělo být edukováno o možnosti náběru krevního obrazu do této zkumavky s ThromboExactem a mělo by jí mít kdykoliv k dispozici.

Pokud pacient měl již v minulosti problémy s pseudotrombocytopenií, měla by laboratoř oddělení upozornit a pacient by se poté měl vždy nabírat do této zkumavky. Zkumavku s ThromboExactem vyrábí firma Sarstedt, ale lze do ní odebrat i z odběrového systému Vacuette.

V České republice se momentálně zvyšuje počet odběrů do zkumavky s ThromboExactem a začleňuje se tak do rutinních provozů, což je velikým přínosem v diferenciální diagnostice trombocytopenií.

8. Seznam literatury

1. ADAM, Z., & VORLÍČEK, J. 2007. *Hematologie pro praktické lékaře. 1. vyd. Praha: Galén., 314 s. ISBN 978-80-7262-453-9.*
2. BIZZARO, N. 2013. Pseudothrombocytopenia. In *Platelets (Third Edition)* (pp. 989-997).
3. BLÁHOVÁ, K. 2000. *Hemolyticko-uremický syndrom.* TRITON.
4. BROOS, K., FEYS, H. B., DE MEYER, S. F., VANHOORELBEKE, K., & DECKMYN, H. 2011. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood reviews*, 25(4), 155-167.
5. BROWN, B. A., HUNTER, R. C., O'HARE, A., & ERIM, G. 1993. *Hematology: principles and procedures* (pp. 1-453). Philadelphia: Lea & Febiger.
6. ČERVINEK, L.; DOUBEK, M.; MAYER, J. 2009. Idiopatická trombocytopenická purpura – patogeneze, moderní léčba a analýza prevalence, diagnostiky a terapie nemoci v Jihomoravském kraji. *Transfhematologie*, 15: 23-30.
7. DOUBEK, M a ADAM Z. 2017 *Hematologie: pomocník ke stáží na hematologických pracovištích.* Brno: Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-8776-7
8. FERREIRO, J. L., SIBBING, D., & ANGIOLILLO, D. J. 2010. Platelet function testing and risk of bleeding complications. *Thrombosis and haemostasis*, 104(06), 1128-1135.
9. HOFFMAN, R. et al. 2013. *Hematology: basic principles and practice.* Elsevier Health Sciences.
10. INDRÁK, K. a kol. 2006. *Hematologie. 1. vyd. Praha: Triton. 278 s. ISBN 80-7254-868-9.*
11. JOST, J., TÄUBER, M. G., LÜTHY, R., & SIEGENTHALER, W. 1988. HIV-associated thrombocytopenia. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*, 118(6), 206-212.

12. KAUSHANSKY, K. 2009. Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis. *ASH Education Program Book, 2009*(1), 147-152.
13. Key, N. S. 2017. *Practical hemostasis and thrombosis*. John Wiley & Sons.
14. KITTNAR, O. 2011 *Lékařská fyziologie. 1. vyd. Praha: Grada*, (p. 313). ISBN 978-80-247-3068-4.
15. KOSAKI, G. 2008. Platelet production by megakaryocytes: protoplatelet theory justifies cytoplasmic fragmentation model. *International journal of hematology*, 88(3), 255.
16. KOVACS, F., VARGA, M., PATAKI, Z., & RIGO, E. 2016. Pseudothrombocytopenia with multiple anticoagulant sample collection tubes. *Interventional Medicine and Applied Science*, 8(4), 181-183.
17. KOZÁK, T. 2015. *Imunitní trombocytopenie: průvodce ošetřujícího lékaře: patofyziologie, diagnostika, terapie*. Praha: Maxdorf, Jessenius. ISBN 978-80-7345-370-1.
18. KUBISZ, P., & DOBROTOVÁ, M. 2006. *Hematológia a transfuziologie: Učebnica*. Grada Publishing as.
19. MALARA, A., & BALDUINI, A. 2012. Blood platelet production and morphology. *Thrombosis research*, 129(3), 241-244.
20. MANNUS, S., SCHUFF-WERNER, P., DREIBIGER, K., & KOHLSCHEIN, P. 2016. Magnesium sulfate as an alternative in vitro anticoagulant for the measurement of platelet parameters?. *American journal of clinical pathology*, 145(6), 806-814.
21. MATĚJKOVÁ, S., PILOUSKOVÁ, M., 2017. SOP ON Příbram
22. MATĚJKOVÁ, S., 2017. SOP ON Příbram

23. MATSUNO, H., KOZAWA, O., NIWA, M., UESHIMA, S., MATSUO, O., COLLEN, D., & UEMATSU, T. 1999. Differential role of components of the fibrinolytic system in the formation and removal of thrombus induced by endothelial injury. *Thrombosis and haemostasis*, 81(04), 601-604.
24. MIKULENKOVÁ, D., 2016. Hodnocení krevních nátěrů EHK
25. MISCHKE, R. 2005. *Zytologisches Praktikum für die Veterinärmedizin*. Schlütersche.
26. NOVOTNÝ, J. 2005. Heparinem indukovaná trombocytopenie—editorial. *Vnitř. Lék*, 51.2: 148-152.
27. PEARSON, H. A., SHULMAN, N. R., MARDER, V. J., & CONE, T. E. 1964. Isoimmunoneonatal thrombocytopenic purpura: clinical and therapeutic considerations. *Blood*, 23(2), 154-177.
28. PECKA, M. 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Finidr.
29. PENKA, M. 2003. *Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)*. Grada Publishing as.
30. PENKA, M., & BULIKOVÁ, A. 2009. *Neonkologická hematologie*. Grada.
31. PENKA, M., PENKA, I., & GUMULEC, J. 2014. *Krvácení*. Grada.
32. PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., & BLATNÝ, J. 2011. *Hematologie a transfúzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada, (p. 424). ISBN 978-80-247-3459-0.
33. STARÝ, J., et al. 2001. Imunní (idiopatická) trombocytopenická purpura—incidence, diagnostické a léčebné přístupy v České republice. *Čes.-slov. Pediat*, 56: 111-115.
34. STEHLÍKOVÁ, M., et al. 2002. Laboratorní diagnostika heparinem indukované trombocytopenie. *Transfúze a Hematologie Dnes*, 8.2: 59-62.
35. ŠIMETKA, O., VLK R., PROCHÁZKA H. 2013. *HELLP syndrom*. Praha: Maxdorf, c. Porodnictví krok za krokem. ISBN 978-80-7345-361-9.

36. ŠMÍDOVÁ, J., DUDKOVÁ, I., 2017. *Karta přístroje Sysmex*
37. VYDRA, Jan a Petr CETKOVSKÝ. 2015. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3698-6.
38. WINTROBE, MAXWELL MYER. 2009. *Wintrobe's clinical hematology*. Lippincott Williams & Wilkins.
39. ZANDMAN-GODDARD, G., & SHOENFELD, Y. 2002. HIV and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 1(6), 329-337.
40. ZDENĚK, H. 2004. *Rizikové a patologické těhotenství*. Grada Publishing as.

9. Seznam obrázků, tabulek a grafů

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 – Schéma poruch primární hemostázy (zdroj vlastní)..... | 15 |
| Obrázek 2 – Hydrodynamická fokusace (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 28 |
| Obrázek 3 – Normální histogram (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 29 |
| Obrázek 4 – Normální histogram (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 29 |
| Obrázek 5 – Poměr objemu destiček k celkovému objemu krve (Šmídová J., Dudková I., 2017)..... | 30 |
| Obrázek 6 – P-LCR – poměr velkých trombocytů (Šmídová J., Dudková I., 2017)..... | 30 |
| Obrázek 7 – PDW – distribuční šíře trombocytů (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 31 |
| Obrázek 8 – Abnormální výška u dolního diskriminátoru (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 31 |
| Obrázek 9 – Abnormální výška u horního diskriminátoru (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 32 |
| Obrázek 10 – PLT abnormální distribuce (Šmídová J., Dudková I., 2017) | 32 |
| Obrázek 11 – Překrytí populací PLT/RBC (Šmídová J., Dudková I., 2017)..... | 33 |
| Obrázek 12 – Vysoké hodnoty P-LCR (Šmídová J., Dudková I., 2017)..... | 33 |
| Obrázek 13 – Technika krevního nátěru (Mischke, R., 2005)..... | 35 |
| Obrázek 14 – Normální nátěr (Mikulenková, D., 2016)..... | 37 |
| Obrázek 15 – Makrotrombocyt (Mikulenková, D., 2016) | 37 |
| Obrázek 16 – Megalotrombocyt (Mikulenková, D., 2016) | 37 |
| Obrázek 17 – Trombocytóza (Osaro, E., 2014)..... | 38 |
| Obrázek 18 – Destičkový satelitismus (Pecka, M. 2006) | 38 |
| Obrázek 19 – Anisocytóza (Mikulenková, D., 2016) | 38 |
| Obrázek 20 – Shluky trombocytů (zdroj vlastní)..... | 39 |
| | |
| Tabulka 1 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ | 40 |
| Tabulka 2 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle pohlaví..... | 41 |
| Tabulka 3 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle věku | 42 |
| Tabulka 4 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle oddělení | 43 |
| Tabulka 5 – Seznam všech testovaných pacientů | 51 |
| | |
| Graf 1 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ | 40 |
| Graf 2 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle pohlaví..... | 41 |
| Graf 3 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle věku | 42 |
| Graf 4 – Pacienti s rozdílem $PLT > 50 \times 10^9/l$ podle oddělení..... | 43 |

10. Seznam příloh

Tabulka 5 – Seznam všech testovaných pacientů

| Číslo vzorku | Hodnota PLT v K ₃ EDTA (10 ⁹ /l) | Hodnota PLT v Thromboexactu (10 ⁹ /l) | Rozdíl PLT | Oddělení |
|--------------|--|--|------------|----------|
| 1 | 211 | 228 | 11 | hem-a |
| 2 | 81 | 83 | 2 | hem-a |
| 3 | 102 | 106 | 4 | hem-a |
| 4 | 26 | 25 | 1 | hem-a |
| 5 | 93 | 95 | 2 | hem-a |
| 6 | 117 | 269 | 152 | onk |
| 7 | 113 | 292 | 179 | onk |
| 8 | 21 | 244 | 223 | hem-a |
| 9 | 143 | 144 | 1 | hem-a |
| 10 | 132 | 140 | 8 | hem-a |
| 11 | 125 | 130 | 5 | hem-a |
| 12 | 111 | 118 | 7 | hem-a |
| 13 | 125 | 132 | 7 | hem-a |
| 14 | 136 | 132 | -4 | hem-a |
| 15 | 19 | 263 | 244 | uro-l |
| 16 | 148 | 150 | 2 | hem-a |
| 17 | 128 | 135 | 7 | hem-a |
| 18 | 130 | 128 | 2 | int |
| 19 | 92 | 105 | 13 | inf |
| 20 | 62 | 70 | 8 | hem-a |
| 21 | 150 | 161 | 6 | hem-a |
| 22 | 147 | 144 | -3 | hem-a |
| 23 | 139 | 142 | 3 | hem-a |
| 24 | 117 | 129 | 12 | hem-a |
| 25 | 123 | 121 | -2 | hem-a |
| 26 | 63 | 225 | 162 | hem-a |
| 27 | 134 | 264 | 130 | hem-a |
| 28 | 124 | 128 | 4 | onk |
| 29 | 136 | 140 | 4 | int |
| 30 | 119 | 121 | 2 | hem-a |
| 31 | 105 | 110 | 5 | hem-a |
| 32 | 139 | 142 | 3 | hem-a |
| 33 | 150 | 158 | 8 | hem-a |
| 34 | 133 | 133 | 0 | hem-a |
| 35 | 103 | 106 | 3 | hem-a |
| 36 | 119 | 120 | 1 | hem-a |
| 37 | 127 | 130 | 3 | hem-a |
| 38 | 136 | 139 | 3 | hem-a |
| 39 | 19 | 163 | 144 | gyn-l |
| 40 | 65 | 66 | 1 | hem-a |
| 41 | 83 | 169 | 86 | Ak.příj |
| 42 | 136 | 139 | 3 | hem-a |

| | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----------|
| 43 | 142 | 140 | -2 | hem-a |
| 44 | 102 | 105 | 3 | hem-a |
| 45 | 91 | 91 | 0 | hem-a |
| 46 | 139 | 143 | 4 | hem-a |
| 47 | 150 | 153 | 3 | hem-a |
| 48 | 138 | 143 | 5 | hem-a |
| 49 | 146 | 150 | 4 | hem-a |
| 50 | 126 | 132 | 6 | hem-a |
| 51 | 121 | 126 | 5 | hem-a |
| 52 | 142 | 146 | 4 | hem-a |
| 53 | 136 | 140 | 4 | hem-a |
| 54 | 126 | 127 | 7 | hem-a |
| 55 | 132 | 133 | 1 | hem-a |
| 56 | 104 | 262 | 158 | onk |
| 57 | 137 | 142 | 5 | hem-a |
| 58 | 125 | 126 | 1 | hem-a |
| 59 | 141 | 144 | 3 | hem-a |
| 60 | 132 | 136 | 4 | hem-a |
| 61 | 145 | 149 | 4 | hem-a |
| 62 | 72 | 138 | 66 | akut.přij |
| 63 | 105 | 159 | 54 | hem-a |
| 64 | 129 | 129 | 0 | hem-a |
| 65 | 93 | 95 | 2 | hem-a |
| 66 | 118 | 129 | 11 | hem-a |
| 67 | 109 | 113 | 4 | hem-a |
| 68 | 130 | 139 | 9 | hem-a |
| 69 | 88 | 89 | 1 | hem-a |
| 70 | 102 | 110 | 8 | hem-a |
| 71 | 67 | 69 | 2 | hem-a |
| 72 | 94 | 100 | 6 | hem-a |
| 73 | 82 | 88 | 6 | hem-a |
| 74 | 58 | 58 | 0 | hem-a |
| 75 | 33 | 255 | 222 | onk |
| 76 | 109 | 111 | 2 | hem-a |
| 77 | 144 | 153 | 9 | inf. |
| 78 | 131 | 131 | 0 | hem-a |
| 79 | 100 | 101 | 1 | hem-a |
| 80 | 93 | 96 | 3 | hem-a |
| 81 | 63 | 69 | 6 | hem-a |
| 82 | 19 | 20 | 1 | hem-a |
| 83 | 65 | 70 | 5 | hem-a |
| 84 | 80 | 87 | 7 | hem-a |
| 85 | 83 | 93 | 10 | hem-a |
| 86 | 56 | 67 | 11 | hem-a |
| 87 | 91 | 105 | 14 | hem-a |
| 88 | 23 | 25 | 2 | hem-a |
| 89 | 99 | 104 | 5 | hem-a |
| 90 | 64 | 232 | 168 | onk |

| | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-------|
| 91 | 16 | 198 | 182 | gyn-l |
| 92 | 101 | 106 | 5 | hem-a |
| 93 | 155 | 305 | 150 | hem-a |
| 94 | 49 | 58 | 9 | hem-a |
| 95 | 1 | 3 | 2 | onk |
| 96 | 121 | 122 | 1 | hem-a |
| 97 | 30 | 31 | 1 | hem-a |
| 98 | 68 | 68 | 0 | hem-a |
| 99 | 94 | 103 | 9 | hem-a |
| 100 | 64 | 70 | 6 | hem-a |

11. Seznam zkratek

ADP – adenosindifosfát

AST – aspartát transferáza

ATP – adenosintrifosfát

BFU-Meg – burst forming unit - megakaryocyte

CFU-Meg – colony forming unit - megakaryocyte

DIC – diseminovaná intravaskulární koagulace

DITP – polékové trombocytopenie

HLA – human leukocyte antigen

HUS – hemolyticko-uremický syndrom

ITP – idiopatická imunitní trombocytopenická purpura

PDW – distribuční šíře velikosti trombocytů

PLT – krevní destičky

RBC – červené krvinky

SLE – systémový lupus erythematoses

TTP – trombotická trombocytopenická purpura

vWF – von Willebrandův faktor