



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Vliv farmakoterapie u idiopatické trombocytopenické purpury (ITP)

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

Autor: Jakub Brychta

Vedoucí práce: Mgr. Martina Šťávová

České Budějovice 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Vliv farmakoterapie u idiopatické trombocytopenické purpury (ITP)“ jsem vypracoval 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 jejich 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 29. 4. 2024

.....

podpis

Poděkování

Chtěl bych poděkovat Mgr. Martině Šťákové za odbornou pomoc, připomínky a čas, který mi věnovala při psaní bakalářské práce. Také bych chtěl poděkovat panu MUDr. Liboru Červinkovi PhD. za odborné konzultace a pomoc mě nasměrovat správným směrem při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat spolupracovníkům Hematologicko-transfúzního oddělení Nemocnice Jihlava, především pak vrchní laborantce paní Věře Doupovcové za podporu při studiu a možnost doplnit si vzdělání. V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině za trpělivost a podporu při mém studiu.

Vliv farmakoterapie u idiopatické trombocytopenické purpury (ITP)

Abstrakt

Tato práce se zaměřuje na monitorování dynamiky počtu trombocytů během farmakoterapie u pacientů s idiopatickou trombocytopenickou purpurou (ITP) a dále na srovnání účinnosti různých léčebných strategií. Za účelem dosažení tohoto cíle byly analyzovány vzorky žilní krve pacientů s diagnostikovanou ITP, které byly odebrány a uchovávány v antikoagulačním činidle K3EDTA. Následně byla provedena kvantifikace počtu krevních destiček (PLT) a procentuálního zastoupení nezralých retikulovaných trombocytů (IPF) pomocí hematologického analyzátoru řady XN od společnosti Sysmex. Všechny výsledky byly zapsány a vyhodnoceny v programu excel. Následně byly z výsledků vytvořeny 3 tabulky a pacienti roztrženi podle typu léčby. Nakonec bylo vybráno 5 kazuistik pacientů s ITP .

Výsledky této studie přináší poznatky o účincích farmakoterapie u pacientů s ITP a poskytují vhled do efektivity různých léčebných možností. Tyto poznatky mohou poskytnout užitečné informace pro představu optimálního léčebného režimu pro jednotlivé pacienty s ITP. Lepší porozumění aspektům tohoto onemocnění může vést ke zlepšení kvality života pacientů trpících ITP.

Individuální reakce pacientů na léčbu je klíčová, přičemž výběr léčby závisí na závažnosti příznaků a nežádoucích účincích. Průměrné hodnoty trombocytů se lišily mezi skupinami pacientů bez léčby, s léčbou první linie a druhé linie. Dále jsem zaznamenal, že správná léčba může vést k nárůstu počtu trombocytů. Důležitý je individuální přístup k pacientům a pravidelné sledování reakce na léčbu. Nové metody farmakoterapie ITP nabízejí cílenější účinek léčby.

Klíčová slova

Trombocyty; ITP; farmakoterapie; počet trombocytů; symptomy; diagnostika

Effect of pharmacotherapy in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)

Abstract

This study focuses on the monitoring of platelet count dynamics during pharmacotherapy in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and the comparison of the efficacy of different treatment strategies. To achieve this goal, venous blood samples from patients diagnosed with ITP were analyzed and stored in the anticoagulant K3EDTA. Subsequently, platelet count (PLT) and percentage of immature reticulated platelets (IPF) were quantified using the XN series hematology analyzer from Sysmex. All results were recorded and evaluated in excel software. Subsequently, 3 tables were created from the results and patients were categorized according to the type of treatment. Finally, 5 case reports of patients with ITP were selected.

The results of this study provide insights into the effects of pharmacotherapy in patients with ITP and provide insights into the effectiveness of different treatment options. These findings may provide useful information for envisioning the optimal treatment regimen for individual patients with ITP. A better understanding of aspects of this disease may lead to an improved quality of life for patients with ITP.

The individual response of patients to treatment is crucial, with the choice of treatment depending on the severity of symptoms and side effects. Mean platelet values differed between the groups of patients without treatment, with first-line and second-line treatment. I also noted that proper treatment can lead to an increase in platelet count. Individual approach to patients and regular monitoring of response to treatment is important. New methods of pharmacotherapy for ITP offer a more targeted treatment effect.

Keywords

Platelets; ITP; pharmacotherapy; platelet count; symptoms; diagnosis

Obsah

1	Úvod	9
2	Krev	10
2.1	Krevní buňky	10
2.1.1	Erytrocyty (červené krvinky)	10
2.1.1.1	Vývojová řada erytrocytů	10
2.1.2	Leukocyty (bílé krvinky)	10
2.1.2.1	Vývojová řada leukocytů	11
2.1.3	Trombocyty (krevní destičky)	11
2.1.3.1	Vývojová řada trombocytů	11
3	Trombocyty	12
3.1	Úvod	12
3.2	Tvorba trombocytu v krvi	12
3.2.1	Trombopoetin (TPO)	13
3.3	Granula a sekrece	13
3.3.1	Delta-granula	13
3.3.2	Alfa-granula	14
3.3.3	Lambda-granula	14
3.4	Role krevní destičky v primární hemostáze	14
3.5	Trombocytopenie	15
3.5.1	Symptomy trombocytopenie	15
3.5.2	Diagnostika trombocytopenie	15
3.5.3	Léčba trombocytopenie	16
3.5.4	Typy trombocytopenie	16
3.5.5	Pseudotrombocytopenie	16
3.5.6	Destičkový satelitismus	17
4	Imunitní trombocytopenická purpura	18
4.1	Úvod	18
4.2	Incidence ITP	18
4.3	Patofyziologie ITP	19
4.3.1	Autoprotilátky v patogenezi ITP	19

4.3.2	Molekulární a buněčné mechanismy patogeneze ITP	21
4.3.2.1	B-lymfocyty a autoprotilátky	21
4.3.2.2	Nerovnováha T-lymfocytů u ITP	21
4.3.2.3	Dendritické buňky u ITP	23
4.3.3	Role monocytomakrofágového systému v patogenezi ITP	25
4.3.4	Omezená tvorba trombocytů.....	25
4.4	Symptomy ITP	26
4.5	Diagnostika ITP	27
4.5.1	Další vyšetření používaná při diagnostice ITP	27
4.6	Léčba ITP	28
4.6.1	Léčba 1. linie.....	29
4.6.1.1	Kortikosteroidy	29
4.6.1.2	Kombinovaná imunosupresivní léčba.....	29
4.6.1.3	Intravenózní imunoglobuliny (IVIG).....	29
4.6.2	Léčba 2. linie.....	30
4.6.2.1	Agonisté TPO receptoru (TPO-RA)	30
	Doptelet.....	31
4.6.2.2	Rituximab	32
4.6.3	Léčba refrakterní ITP	32
4.6.3.1	Principy léčby refrakterní ITP	32
4.6.3.2	Seznam léčebných přístupů pro refrakterní imunitrombocytopenii... 33	
4.6.4	Substituce transfuzními přípravky	34
4.6.5	Léčba vážného nebo život ohrožujícího krvácení u pacientů s ITP	34
4.6.6	Hodnocení léčebné odpovědi.....	35
5	Cíl práce	36
5.1	Výzkumné otázky:	36
6	Metodika.....	37
6.1	Preanalytická fáze	37
6.1.1	Postup při odběru krve.....	37
6.1.2	Přijetí vzorku do laboratoře	39
6.2	Analytická fáze	39

6.2.1	Metody stanovení počtu trombocytů na analyzátoru Sysmex řady XN ...	39
6.2.1.1	Impedanční metoda.....	39
6.2.1.2	Optická metoda.....	40
6.2.1.3	Kanál PLT-F.....	41
6.2.1.4	Mikroskopické metody.....	41
7	Výsledky	43
7.1	Porovnání jednotlivých typů léčby a jejich účinnost.....	43
7.2	Procentuální rozdělení pacientů s ITP dle typu léčby.....	44
7.3	Pacienti bez léčby.....	45
7.4	Pacienti s léčbou 1. linie.....	46
7.5	Pacienti s léčbou 2. linie.....	46
7.6	Kazuistiky pacientů s ITP.....	47
7.6.1	Pacient číslo 1.....	47
7.6.1.1	Provedená měření k obrázku číslo 16.....	47
7.7	Pacient číslo 2.....	48
7.7.1.1	Provedená měření k obrázku číslo 17.....	49
7.8	Pacient číslo 3.....	50
7.8.1.1	Provedené měření k obrázku číslo 18.....	50
7.9	Pacient číslo 4.....	51
7.9.1.1	Provedená měření k obrázku číslo 19.....	52
7.10	Pacientka číslo 5.....	52
7.10.1.1	Provedená měření k obrázku číslo 20.....	53
8	Diskuse.....	54
9	Závěr.....	56
10	Zdroje.....	57
11	Seznam obrázků a tabulek.....	62
11.1	Seznam obrázků.....	62
11.2	Seznam tabulek.....	62
12	Seznam zkratk.....	63

1 Úvod

Imunitní trombocytopenie (dříve používaný název Idiopatická trombocytopenická purpura) je autoimunitní porucha charakterizovaná nízkým počtem krevních destiček, což má za následek zvýšené riziko krvácení a tvorbu hematomů. Toto onemocnění postihuje jak děti, tak dospělé, s odhadovanou incidencí 1-3 případy na 100 000 obyvatel ročně. ITP je považována za poruchu spojenou převážně s imunitní odpovědí namířenou proti krevním destičkám, nové výzkumy nás vedou k poznání složitých imunopatologických mechanismů tohoto onemocnění.

Centrální roli v patogenezi ITP hraje autoimunitní reakce, při které imunitní systém těla chybně identifikuje krevní destičky jako tělu cizí a snižuje tak jejich počet. Proces vzniku tohoto onemocnění může být způsoben různými faktory, např. genetické predispozice, prodělání infekčního onemocnění atd. Důsledkem je zvýšená destrukce krevních destiček ve slezině nebo inhibice jejich tvorby v kostní dřeni.

V současné době se intenzivně zkoumá role imunitního systému a jeho interakce s různými buňkami a molekulami v patogenezi ITP, např. antigen-prezentujících buněk (APC), dendritických buněk a dalších podskupin.

Léčba ITP zahrnuje různé přístupy v závislosti na závažnosti onemocnění a individuálním stavu pacienta. Mezi základní léčbu patří léčba pomocí kortikoidů, které mohou ztlumit imunitní odpověď a tím zvýšit počet krevních destiček. Další léčebné varianty zahrnují intravenózní imunoglobuliny (IVIG), které také inhibují aktivitu imunitního systému, terapie Rituximabem, jež cíleně ovlivňuje produkci antitrombocytárních protilátek. U těžkých případů může být zvážena splenektomie, chirurgický zákrok odstranění sleziny, která je místem intenzivní destrukce krevních destiček. Nové terapeutické možnosti, jako jsou inhibitory trombopoetinu (TPO) a inhibitory Fc receptorů, jsou v současnosti ve vývoji a mohou poskytnout další alternativy pro léčbu ITP. Porozumění imunopatologickým mechanismům ITP může vést k účinnějším léčebným strategiím a ke zlepšení prognózy pacientů trpících tímto onemocněním.

2 Krev

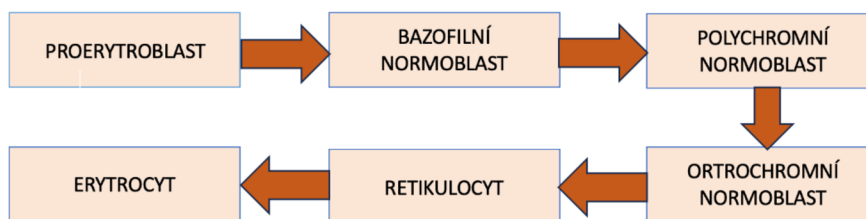
Krev je nejdůležitější tělesná tekutina v lidském organismu. V lidském těle se ji nachází přibližně 4,5 litrů u žen a 5 litrů u mužů. Přibližně 45 % objemu krve tvoří různé krevní buňky, zbylých 55 % je tvořeno plazmou. Krev má celou řadu funkcí (například zásobování orgánů kyslíkem nebo imunitní dohled). (Národní zdravotnický informační portál, 2024 [online])

2.1 Krevní buňky

2.1.1 Erytrocyty (červené krvinky)

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky, které obsahují velké množství hemoglobinu, neboli červeného krevního barviva. Na hemoglobin se v plicích váže kyslík, který je pak roznášen do jednotlivých tkání. Vznik erytrocytu se nazývá erytropoéza a probíhá v kostní dřeni. (Národní zdravotnický informační portál, 2024 [online])

2.1.1.1 Vývojová řada erytrocytů

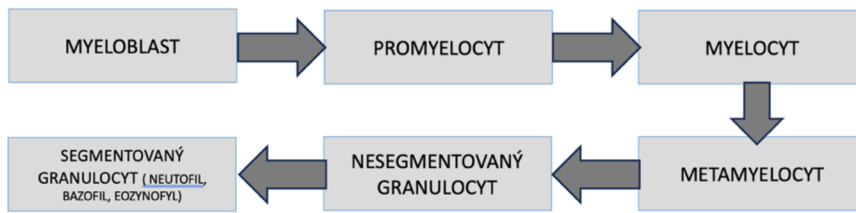


Obrázek 1 - vývojová řada erytrocytů (zdroj vlastní)

2.1.2 Leukocyty (bílé krvinky)

Leukocyty jsou součástí krve a řadí se mezi buňky imunitního systému. Leukocyty mají významnou úlohu při obraně organismu proti infekčním onemocněním. Rozlišujeme pět typů leukocytů, které dělíme do dvou skupin, a to podle obsahu tzv. cytoplazmatických granul. Vznik leukocytů je označován jako leukopoéza a probíhá v kostní dřeni a brzlíku. (Národní zdravotnický informační portál, 2024 [online])

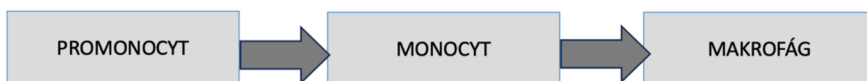
2.1.2.1 Vývojová řada leukocytů



Obrázek 2 - vývojová řada granulocytů (zdroj vlastní)



Obrázek 3 - vývojová řada lymfocytů (zdroj vlastní)

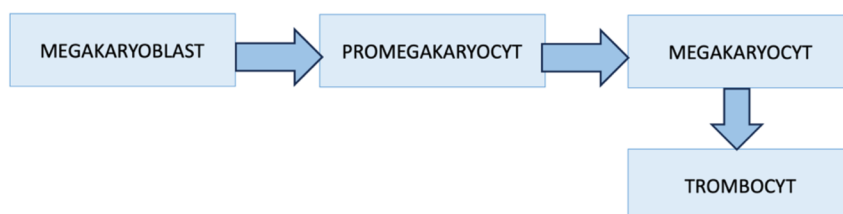


Obrázek 4 - vývojová řada monocytů (zdroj vlastní)

2.1.3 Trombocyty (krevní destičky)

Trombocyty hrají hlavní roli při zástavě krvácení. Trombocyty nejsou celé buňky, jedná se o bezjaderné úlomky tzv. megakaryocytů – velkých buněk, které vznikají v kostní dřeni. (Národní zdravotnický informační portál, 2024 [online])

2.1.3.1 Vývojová řada trombocytů



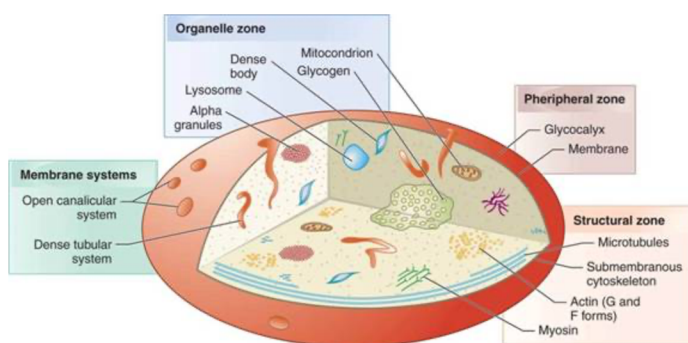
Obrázek 5 - vývojová řada trombocytů (zdroj vlastní)

3 Trombocyty

3.1 Úvod

Od jejich první identifikace Bizzozzerem v 80. letech 19. století je známo, že se podílejí na srážení krve. Trombocyty (obr. 6) jsou malé bezjaderné buněčné fragmenty, které mají charakteristický diskovitý tvar o průměr 1–3 μm . Jejich cytoplazmatická membrána je bohatá na fosfolipidy, které se vychlipují z buňky a vytváří otevřený kanálkový systém. Tento systém se vyznačuje velkou aktivní plochou, kam se váží a aktivují koagulační faktory. (Montague, S. et al. © 2018) Hlavní vlastností trombocytů při srážení krve je jejich schopnost rychlé aktivace, tedy přechodů z klidové formy do formy aktivní – prokoagulační. Kromě hemostatické funkce pomáhají zvýšit obranu hostitele proti bakteriální invazi tím, že jsou prvními respondenty, kteří detekují patogeny. Nové studie odhalují, že trombocyty se mohou vázat přímo na infikované erythrocyty a zabít intraerythrocytární parazity malarických druhů Plasmodium. (Golebiewska, E., Pool, A. 2015)

Referenční rozmezí trombocytů u dospělého člověka je 150–400*10⁹/l. (Golebiewska, E., Pool, A. 2015)



Obrázek 6 - struktura trombocytů (zdroj – Shamshad Begum Ioni, 2020)

3.2 Tvorba trombocytu v krvi

Krevní destička pochází z hematopoetické megakaryocytární linie. Produkce krevních destiček z megakaryocytů je systematický a regulovaný proces, o kterém se předpokládá, že probíhá v kostní dřeni. (Machlus, K., Italiano, J., 2013)

Krevní destičky vznikají z cytoplazmy megakaryocytů (MK), prekursorových buněk, které sídlí v kostní dřeni. MK jsou největší (50–100 μm) jaderné buňky KD, tvoří ~0,01%

buněk kostní dřeně. MK může vyprodukovat 10–20 destiček, jejichž vznik začíná tvorbou tupých výčnělků, které se postupem času prodlužují, ztenčují a opakovaně větví. Při vývoji přijímají krevní destičky svůj obsah granul a organel jako proudy jednotlivých částic transportovaných z těla buňky MK. Tvorba krevních destiček je rozdělena do dvou fází: V první fázi dochází k vyzrání MK, k němuž jsou potřebné specifické růstové faktory. Během této fáze dochází k masivní jaderné proliferaci a zvětšování objemu cytoplazmy MK, která obsahuje cytoskeletální proteiny a granula specifická pro krevní destičky. Druhá fáze je poměrně rychlá a je ukončena během několika hodin. V této fázi MK generují krevní destičky remodelací své cytoplazmy nejprve jako protrombocyty a poté pretrombocyty, které se následně štěpí za vzniku diskoidních krevních destiček. Doba potřebná pro MK k dokončení polyploidizace, zrání a uvolnění krevních destiček je ~5 dní. Po uvolnění do krevního řečiště přežívají lidské krevní destičky 7–10 dní. (Machlus, K., Italiano, J., 2013)

3.2.1 Trombopoetin (TPO)

Megakaryopoéza probíhá za účasti několika růstových faktorů, z nichž nejdůležitější je trombopoetin (TPO). TPO patří do rodiny cytokinů, která mimo jiné zahrnuje erythropoetin, G-CSF, růstový hormon a leukemický inhibiční faktor. TPO je tvořen především v játrech. (Machlus, K., Italiano, J., 2013)

3.3 Granula a sekrece

Předpokládá se, že krevní destičky obsahují tři typy granul.

3.3.1 Delta-granula

Krevní destička obsahuje přibližně 4–6 delta-granul. Tato granula obsahují vápník, ATP, ADP, 5-HT a epinefrin. Po počátečních krocích aktivace krevních destiček se tento typ granul spojí s plazmatickou membránou krevní destičky prostřednictvím komplexů SNARE, jako je VAMP8, a uvolní svůj obsah do extracelulárního vaskulárního prostoru. Jednou z nejvíce studovaných tříd receptorů na krevních destičkách, o kterých je známo, že reagují na uvolňování delta-granul, jsou purinergní receptory (P2Y_x). Krevní destičky exprimují dva purinergní receptory, P2Y₁ a P2Y₁₂, u kterých bylo prokázáno, že oba hrají důležitou roli při jejich aktivaci. Právě receptor P2Y₁₂ je cílem protideštičkové terapie (antiagregační léčby). (Holinsta, M., 2017)

3.3.2 Alfa-granula

Krevní destička obsahuje 60–80 alfa granul s různými druhy proteinů, které se po sekreci z granul uvolňují buď na povrch krevních destiček, nebo do oběhu. Jedním z hlavních markerů aktivace krevních destiček, uvolňující se z tohoto typu granul, je P-selektin. Tento protein je po uvolnění z granul ukotven na vnější stranu plazmatické membrány krevních destiček a jeho funkcí je propojování jednotlivých krevních destiček mezi sebou, ale také spojení s endoteliálními buňkami cév. (Holinsta, M., 2017)

3.3.3 Lambda-granula

Tato granula, označována také jako lysozomální, obsahují lysozomální enzymy a hrají důležitou roli při degradaci proteinů. Mnoho látek uvolněných z granul hraje důležitou roli v pozitivní zpětné vazbě při procesu aktivace krevních destiček. (Holinsta, M., 2017)

3.4 Role krevní destičky v primární hemostáze

Trombocyty jsou nezbytné pro primární hemostázu, což je počáteční krok v procesu srážení krve. Při poškození cévy způsobí kolagen a von Willebrandův faktor, že se krevní destičky přichytí k místu poškození. Po této adhezi následuje aktivace trombocytů, během níž trombocyty mění tvar, uvolňují obsah granul a exprimují povrchové receptory. Aktivované destičky se pak shlukují a vytvářejí destičkovou zátku, která pomáhá uzavřít poškozenou cévu a zabraňuje tak další ztrátě krve. Kromě toho krevní destičky uvolňují různé látky, které podporují vazokonstrikci a dále podporují hemostázu. Úloha krevních destiček v primární hemostáze je proto klíčová v prevenci nadměrného krvácení po cévním poranění. (Ghoshal, K., a Bhattacharyya, M., 2014)

Proces adheze a aktivace destiček je zprostředkován několika receptory a signálními cestami. Komplex glykoproteinu Ib-IX-V na povrchu destiček se váže na von Willebrandův faktor, který se uvolňuje z poškozeného endotelu, což vede k adhezi destiček. Následně různí agonisté, jako je adenosindifosfát (ADP), tromboxan A₂ a trombin, aktivují destičky prostřednictvím specifických receptorů, což vede ke kaskádě intracelulárních signálních dějů. Tento aktivační proces způsobí konformační změnu destičkového integrinu α IIb β 3, která umožňuje vázat fibrinogen a von Willebrandův faktor, podporující agregaci trombocytů a tvorbu destičkové zátky. (Ghoshal, K., a Bhattacharyya, M., 2014)

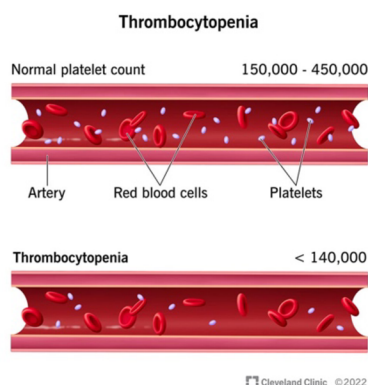
Krevní destičky poskytují povrch pro koagulační kaskádu a uvolňují látky podporující srážení, jako jsou koagulační faktory a fosfolipidy. Uvolňují také látky, které inhibují fibrinolýzu, rozpad sraženin, a tím stabilizují vznikající sraženinu. (Ghoshal, K., a Bhattacharyya, M., 2014)

Kvantitativní a kvalitativní poruchy trombocytů mohou mít navíc významné klinické důsledky. Mezi kvantitativní poruchy řadíme trombocytopenii. (Ghoshal, K., a Bhattacharyya, M., 2014)

3.5 *Trombocytopenie*

Trombocytopenie (obr. 7) je stav, při kterém je počet trombocytů snížen pod $150 \cdot 10^9/l$, což může vést ke zvýšenému riziku krvácení. (Mayo Clinic, 2024 [online])

Trombocytopenie může být způsobena mnoha příčinami jako je aplastická anémie, některá autoimunitní onemocnění, poruchy srážlivosti krve, dědičné poruchy, těhotenství, vliv léků, nádorová onemocnění, chemoterapie, a alkoholismus. (Mayo Clinic, 2024 [online])



Obrázek 7 - Žíla s normálním počtem a se sníženým počtem trombocytů (zdroj - Cleveland Clinic, 2024)

3.5.1 *Symptomy trombocytopenie*

Mezi hlavní symptomy patří snadná tvorba modřin, abnormální krvácení (krvácení z nosu, dásní a silná menstruace), petechie (bodové krvácení v kůži). (Hluší, A., 2022)

3.5.2 *Diagnostika trombocytopenie*

Diagnostika trombocytopenie obvykle zahrnuje vyšetření kompletního krevního obrazu, kterým se stanoví počet krvinek včetně počtu krevních destiček, dále také získáme

informaci o jejich velikosti a tvaru. Může být také provedeno fyzikální vyšetření, včetně kompletní anamnézy, aby se zjistily jakékoli základní zdravotní potíže nebo užívání léků, které mohou snižovat počet krevních destiček. (Penka, M., 2011)

V některých případech je potřeba provést nápomocná vyšetření jako jsou:

- Biopsie kostní dřeně a následné zhodnocení produkce trombocytů v této tkáni.
- Přítomnost antitrombocytárních protilátek.
- Zobrazovací metody, pomocí nichž je zhodnocen stav (velikost) sleziny.

3.5.3 *Léčba trombocytopenie*

Léčba trombocytopenie se odvíjí od příčiny jejího vzniku a také závisí na její závažnosti. Pacienty se závažnou formou ITP je nutné léčit.

3.5.4 *Typy trombocytopenie*

Heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT): typ trombocytopenie, ke které dochází po podání léku heparinu či LMWH (nízkomolekulárního heparinu). Jedná se o závažný stav, kdy je nutné okamžitě vysadit heparin z důvodu vzniku hyperkoagulačního stavu u pacienta. (Healthdirect, 2024 [online])

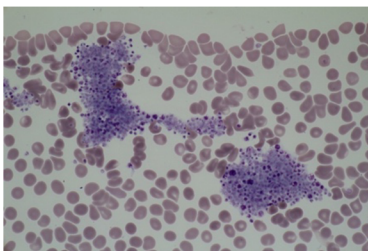
Trombotická trombocytopenická purpura (TTP): Jedná se o život ohrožující onemocnění charakterizované vznikem mikrosraženin, které vedou k ischemii tkání a orgánů. Klinickými projevy je trombocytopenie, mikroangiopatická hemolytická anemie a přítomnost schistocytů v krevním nátěru (více jak 10 schistocytů na 1000 erytrocytů). (Healthdirect, 2024 [online])

Imunitní trombocytopenická purpura: Onemocnění se vyznačuje snížením počtu trombocytů pod $100 \cdot 10^9/l$. Diagnóza je stanovena „*per exclusionem*“, tedy po vyloučení všech ostatních možných diagnóz. (Healthdirect, 2024 [online])

3.5.5 *Pseudotrombocytopenie*

Pseudotrombocytopenie, známá také jako falešná trombocytopenie, je stav charakterizovaný zkresleným počtem krevních destiček ve výsledcích krevních testů v důsledku shlukování krevních destiček *in vitro*. (Penka, M., 2011) K tomuto jevu dochází, když antikoagulační činidlo v odběrové zkumavce, obvykle K3EDTA, způsobí

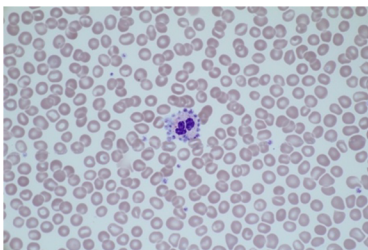
shlukování krevních destiček (obr. 8), což vede k falešnému snížení jejich počtu v krevním obrazu. Jedná se o poměrně vzácný jev, s frekvencí výskytů 0,03–0,27 % v populaci. (Medical News Today, 2024 [online]) Pseudotrombocytopenie může vést k diagnostickým chybám, špatné léčbě a zbytečným invazivním vyšetřením. Je tedy důležité odlišit jí od skutečné trombocytopenie. K rozpoznání pseudotrombocytopenie může pomoci přezkoumání nátěru periferní krve pod mikroskopem nebo odběr krve provést do antikoagulačního činidla například TromboExact obsahující Mg^{2+} . Na rozdíl od skutečné trombocytopenie nedoprovází pseudotrombocytopenii žádné příznaky. (Penka, M., 2011)



Obrázek 8 - shluky trombocytů (zdroj vlastní)

3.5.6 Destičkový satelitismus

Jedná se o vzácný stav, ke kterému dochází při tvorbě IgG protilátek v přítomnosti EDTA, antikoagulantu, který se používá při odběru krve pro stanovení krevního obrazu. Protilátka IgG je namířena proti komplexu glykoproteinu IIb/IIIa na membráně krevních destiček. Jakmile protilátka pokryje trombocyty, ty se obklopí kolem segmentovaných neutrofilů (obr. 9), někdy i kolem monocytů. Trombocyty potažené protilátkou, které se shlukují kolem bílých krvinek (WBC), nebudou automatickým hematologickým analyzátozem započítány mezi trombocyty a počet trombocytů bude falešně snížen. Pokud se přezkoumá nátěr periferní krve, budou pozorovány WBC obklopené trombocyty (obr. 9). (Penka, M., 2011)



Obrázek 9 - destičkový satelitismus (zdroj vlastní)

4 Imunitní trombocytopenická purpura

4.1 Úvod

Imunitní trombocytopenie je definována abnormálně nízkou hladinou destiček, jejich počet z neznámé příčiny klesá pod $100 \cdot 10^9/l$ a zvyšuje se tak riziko krvácení. ITP popisuje příčinu i příznaky onemocnění: idiopatická znamená, že porucha nemá žádnou zjevnou příčinu; trombocytopenie označuje snížený počet krevních destiček a purpura označuje purpurovou nebo červenohnědou kožní vyrážku způsobenou únikem krve z porušených kapilár do kůže. Jedná se o onemocnění autoimunitního původu. (Encyclopedia.com, 2024 [online])

ITP se od roku 2004 často nazývá imunitní trombocytopenická purpura, nikoli idiopatická, protože studie z počátku roku 2000 prokázaly přítomnost autoimunitních protilátek proti trombocytům v krvi. Mezi další názvy ITP patří purpura hemorrhagica a esenciální trombocytopenie. (Červinek, L., et al., 2010)

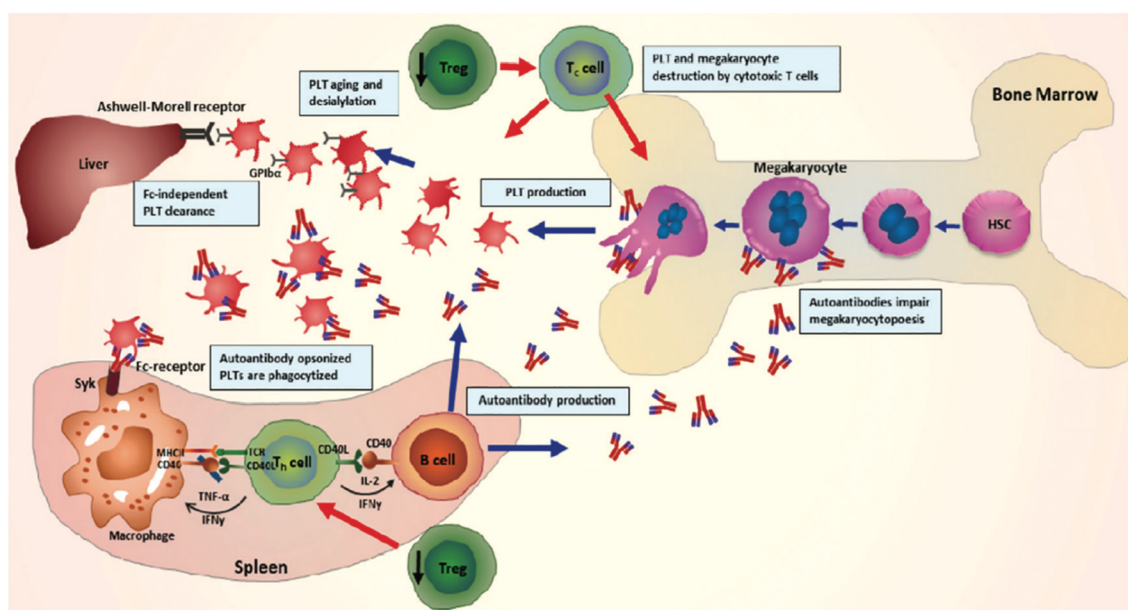
ITP se dělí do dvou typů, a to akutní ITP a chronické ITP. Akutní typ je krátkodobý, trvá méně než 6 měsíců. Je to nejčastější forma poruchy u dětí. Chronický typ, je dlouhodobá forma trvající 6 měsíců nebo déle a nejčastěji se vyskytuje u dospělých. (Encyclopedia.com, 2024 [online])

4.2 Incidence ITP

Na základě dat, které jsou poskytnuty epidemiologickými studiemi, můžeme říct, že roční nárůst ITP u dospělých je v rozmezí 3,2–12,1 pacientů na 100 000 obyvatel za rok. V případě akutní ITP u dětí je to 2–6 pacientů na 100 000 dětí a u chronické 0,5 pacientů na 100 000 dětí. S věkem roste riziko propuknutí ITP, a to u osob nad 60 let. Onemocnění se objevuje častěji u žen, než u mužů, naopak u dětí do 5 let se častěji ITP vyskytuje u chlapců. (Kozák, 2015)

4.3 Patofyziologie ITP

Patogeneze ITP (obr. 10) zahrnuje různé aspekty a úrovně. Na jedné straně se jedná o důsledek zvýšené a předčasné destrukce trombocytů v oběhu, která vychází z imunitní nerovnováhy. Tato nerovnováha spočívá v porušené komunikaci mezi různými složkami imunitní odpovědi. Druhým mechanismem je relativně snížená tvorba trombocytů v kostní dřeni, způsobená poruchou proliferace a dysfunkcí megakaryocytů. (Kozák, 2015)



Obrázek 10 – patofyziologie u ITP (ŠIMKOVÁ, 2022)

4.3.1 Autoprotilátky v patogenezi ITP

Vytváření autoprotilátek namířených proti specifickým povrchovým glykoproteinům destiček představuje klíčový krok při destrukci trombocytů v rámci ITP. Převažující většina těchto autoprotilátek patří do třídy IgG, avšak lze identifikovat i protilátky z tříd IgM a IgA. Specifita těchto protilátek může být heterogenní, zaměřená na jednoho, dva nebo více antigenů destičkového povrchu. Převážná část autoprotilátek u ITP je však cílena na povrchové glykoproteiny destiček (GP) jako GPIIb/IIIa, GPIb/IX nebo GPIa/IIa. Konformace GPIIb/IIIa je nestabilní, na rozdíl od GPIb/IX. (Kozák, 2015)

V léčbě ITP se objevily novinky týkající se specifických protilátek namířených proti komplexu GP Ib/IX. Tyto protilátky jsou přítomny u menšího počtu pacientů s ITP, asi

u 20-40 %. Jejich účinek se liší od běžnějších protilátek anti-GPIIb/IIIa, které se vyskytují v 70-80 % případů ITP. (Kozák, T., et al, 2023)

Obvykle se destrukce trombocytů s navázanými protilátkami považuje za proces, kdy se protilátka váže na trombocyt a poté je fagocytována. Terapeutické přístupy u ITP vycházejí z tohoto mechanismu destrukce trombocytů. Glukokortikoidy snižují fagocytární aktivitu makrofágů a produkci protilátek. Intravenózně podávané imunoglobuliny (IVIG) působí inhibicí aktivace Fc γ receptorů na monocytech a makrofázích, což modifikuje imunitní odpověď. Podobně působí i protilátka anti-D. Tyto terapeutické přístupy ovlivňují klíčové kroky v patofyziologii ITP. (Kozák, 2015)

Nyní existuje stále více důkazů o tom, že protilátky zaměřené proti GPIb vyvolávají destrukci trombocytů jiným mechanismem než protilátky anti-GPIIb/IIIa, konkrétně mechanismem nezávislým na Fc γ receptoru makrofágu. Protilátky anti-GPIb vedou k vyšší expresi P-selektinu, což vede k aktivaci trombocytů, a také k desialylaci glykoproteinů v membráně destiček, zejména transmembránového uhlovodíkového zbytku GPIba. Samotná aktivace trombocytů vede ke zkrácení jejich přežívání, a pozměněná struktura antigenu GPIb je rychle detekována jinými typy receptorů než Fc γ , zejména tzv. Aswell–Morellovým receptorem hepatocytů. (Kozák, T., et al, 2023)

V případě ITP s autoprotilátkami anti-GPIb dochází k zániku trombocytů převážně v játrech, avšak ne prostřednictvím působení jaterních makrofágů, ale přímo v hepatocytech. Tento mechanismus také vysvětluje pomalou nebo žádnou odpověď na léčbu kortikosteroidy a IVIG u některých pacientů s ITP. Sialidáza, zodpovědná za desialylaci glykoproteinů destičkové membrány, se nachází v trombocytech v relativně vysoké koncentraci a je možné ji inhibovat pomocí přirozených nebo syntetických inhibitorů sialydáz. Příkladem přirozené sialydázy je lysozomální neuraminidáza 1 (NEU1) u savců. Sialydázy jsou také produkovány některými bakteriemi a viry. Desialylace trombocytů a zkrácené přežívání jsou prokázaným mechanismem vzniku trombocytopenie při těžkých pneumokokových infekcích a infekci *Trypanosoma cruzi* (Chagasova choroba). Předpokládá se, že tento mechanismus hraje roli i v trombocytopenii při infekci virem chřipky. Mezi syntetické inhibitory sialydáz patří DANA (2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminová kyselina), oseltamivir a peramivir, které jsou primárně užívány k léčbě infekcí chřipkovými viry A a B. Existují i případy, kdy byl pozorován efekt oseltamiviru při léčbě refrakterní ITP. (Kozák, 2015)

4.3.2 Molekulární a buněčné mechanismy patogeneze ITP

4.3.2.1 B-lymfocyty a autoprotilátky

Autoreaktivní protilátky jsou produkovány plazmatickými buňkami, které jsou u pacientů s ITP údajně přítomny ve zvýšených hladinách. Tyto buňky jsou také regulovány B- buněčným regulátorem a aktivujícím faktorem B-lymfocytů (BAFF, též nazývaným stimulator B-lymfocytů nebo BlyS). BAFF je klíčovým faktorem při výběru, přežívání a proliferaci B-lymfocytů. Polymorfismy v promotorové oblasti BAFF a zvýšená koncentrace BAFF v plazmě byly spojeny s ITP u lidí a na myších ITP modelech. Studie rovněž ukázaly, že B-lymfocyty jsou zvýšeny v červené pulpě sleziny u pacientů s ITP a zdá se, že v těchto oblastech sleziny probíhá rychlejší buněčná proliferace. (Zufferey, A., et al, 2017)

Navíc u pacientů s ITP byla zjištěna porucha CD19+CD41hiCD38hi B-regulačních buněk (Bregs), které podporují periferní toleranci. Tyto buňky nedokážou adekvátně omezovat aktivaci CD4+ T-lymfocytů a prostřednictvím sekrece IL-10 indukují rekrutaci CD4+CD25+FoxP3+ T-regulačních buněk (Tregs), což jsou klíčové CD4+ T-lymfocyty pro imunosupresi a toleranci. Nedávné výzkumy rovněž ukázaly, že subpopulace CD19+CD24+FOXP3+ Bregs (B-regulační buňky) je významně zvýšena ve slezině pacientů s ITP ve srovnání s kontrolními pacienty s traumatem. Tyto studie naznačují, že podobně jako u Tregs může být nedostatek periferních Bregs způsoben jejich sekvestrací v lymfoidních kompartmentech. Přesto se jeví, že Bregs a sekrece IL-10 hrají významnou roli v patogenezi ITP. (Zufferey, A., et al, 2017)

Celkově tyto studie naznačují, že u pacientů s ITP dochází k poškození plazmatických buněk, Bregs a B-lymfocytů, což následně vede k produkci patogenních protilátek. Tyto protilátky způsobují destrukci trombocytů ve slezině a játrech prostřednictvím opsonizace, a zároveň negativně ovlivňují megakaryopoézu. (Zufferey, A., et al, 2017)

4.3.2.2 Nerovnováha T-lymfocytů u ITP

U pacientů s ITP byly pozorovány abnormální T-lymfocyty, včetně zvýšené reaktivity pomocných T-lymfocytů vůči trombocytům, snížené frekvence cirkulujících CD4+CD25+FoxP3+ Treg buněk a CD4+ Th0, a aktivované vzory Th1. Pouze asi 60 % pacientů s ITP vykazuje detekovatelné autoprotilátky vázané na trombocyty, což naznačuje, že mechanismus ITP nemusí být zprostředkován pouze protilátkami. S tím

souvisí i pozorování cytotoxických CD8+ T-lymfocytů v krevním oběhu pacientů. Tyto CD8+ T-lymfocyty jsou schopny přímo lyzovat krevní destičky *in vitro* a mohou se hromadit v kostní dřeni, kde inhibují trombopoézu. (Zufferey, A., et al, 2017)

Kromě toho mají pacienti s ITP CD3+ T-lymfocyty s nižší mírou apoptózy a vyšší mírou klonální expanze ve srovnání se zdravými jedinci. Toto vede k abnormální sekreci cytokinů, včetně interleukinu-2 (IL-2), interferonu-gamma (INF- γ) a interleukinu-10 (IL-10), což může být příčinou nižších hladin a funkce CD4+CD25+FoxP3+ Treg buněk pozorovaných u pacientů s aktivní formou onemocnění. (Kozák, 2015)

Zdá se, že Tregs hrají klíčovou roli při udržování autotolerance prostřednictvím interakce s antigen-prezentujícími buňkami (APC) a regulací odpovědí CD19+ B buněk a CD8+ T-lymfocytů, což může být klíčem ke vzniku idiopatické trombocytopenické purpury. Tato subpopulace T-lymfocytů představuje 5–10 % všech cirkulujících CD4+ T-lymfocytů, a nižší hladiny a funkce Tregs u pacientů s chronickou ITP mohou signalizovat dysregulaci buněčné imunity, což vede k autoimunitní destrukci krevních destiček. (Zufferey, A., et al, 2017)

Studie naznačují, že Tregs jsou významně sníženy ve slezině myši s ITP, ale současně se akumulují v thymu. Podobně jako v případě Bregs, je možné, že periferní nedostatek Tregs může být způsoben jejich sekvestrací. Catani a jeho kolegové rovněž prokázali, že narušená komunikace mezi dendritickými buňkami (DC) a Tregs vede k menší toleranci DC. Tato zjištění byla podpořena studií Daridon a spol., kteří pozorovali nižší procento Tregs ve slezinných proliferativních lymfoidních uzlinách u pacientů s ITP, což potvrzuje narušený vývoj Tregs a naznačuje, že v těchto uzlinách může docházet k autoreaktivní produkci protilátek. Na druhou stranu Tregs jsou také modulovány CD16+ monocyty, jejichž zvýšení bylo pozorováno u pacientů s aktivní formou ITP. Zjevně CD16+ monocyty uvolňují IL-12, což podporuje diferenciaci T-lymfocytů na Th1 buňky a zároveň inhibuje sekreci IL-17, což může snižovat modulaci Tregs. Kromě toho se zdá, že CD16+ monocyty v *in vitro* prostředí podporují proliferaci CD4+ T-lymfocytů prostřednictvím INF- γ . (Kozák, 2015)

U pacientů s chronickou idiopatickou trombocytopenickou purpurou není postižena pouze populace Tregs, ale také CD4+ Th-lymfocyty, což vede k defektnímu stavu, zvyšujícímu sekreci IL-2. Tento defekt byl zjištěn prostřednictvím mechanismu zahrnujícího prezentaci glykoproteinu GPIIb/IIIa na destičkách a stimulaci Th-lymfocytů *in vitro*.

Studie rovněž odhalily zvýšené hladiny Th22 a souvisejících cytokinů, jako jsou TNF- α a IL-22, u pacientů s ITP. U dospělých pacientů s ITP bylo zjištěno zvýšení dalších cytokinů, včetně INF- γ . (Zufferey, A., et al, 2017)

Celkově tyto výsledky naznačují defektní stav Th-lymfocytů a defekty v sekreci cytokinů, což může podporovat aktivaci B-lymfocytů. Tato pozorování jsou podporována několika studiemi, které ukazují na deregulaci Th1/Th2, která může být zprostředkována sníženou sekrecí chemokinů a cytokinů odvozených od krevních destiček, včetně epidermálního růstového faktoru (EGF), chemokinového ligandu s motivem C-C 5 (CCL5) a chemokinového ligandu s motivem C-X-C 5 (CXCL5). Feng a jeho kolegové dokonce prokázali, že hladiny těchto cytokinů korelují se závažností ITP v pasivním modelu ITP, což dále zdůrazňuje klíčovou imunomodulační roli krevních destiček v kontextu ITP. ((Zufferey, A., et al, 2017)

Naopak Zang et al. a další výzkumníci uvádějí, že u pacientů s ITP dochází k významné regulaci Th17-lymfocytů a s nimi spojených cytokinů IL-6 a TGF- β . Tato regulace by v kombinaci s poškozením Treg buněk mohla podporovat imunitní odpověď zprostředkovanou Th1 a vyvolat onemocnění u lidí i myši. Th17 buňky, se podobně jako Tregs, se diferencují z CD4+ T-lymfocytů za přítomnosti IL-6 a TGF- β . Sekrece IL-17 pak stimuluje produkci prozánětlivých cytokinů, jako jsou IL-1, IL-6 a INF- γ , což vede k produkci protilátek proti destičkám u myši a u pacientů s ITP. (Zufferey, A., et al, 2017)

Je však důležité zdůraznit, že tato hypotéza není bez kontroverzí, protože jiní výzkumníci neprokázali modulaci těchto cytokinů v plazmě pacientů s ITP. Různé studie mohou nabízet odlišné perspektivy a výsledky a jsou tedy nezbytné další výzkumy k lepšímu pochopení složité imunopatogeneze ITP. (ZUFFEREY, A., KAPUR, R., SEMPLE J., 2017)

4.3.2.3 Dendritické buňky u ITP

Antigen prezentující buňky (APC), včetně dendritických buněk (DC), makrofágů a za určitých podmínek i B-lymfocytů, neustále monitorují své okolí a zpracovávají cizí antigenní materiál, který předkládají imunitním buňkám. Za určitých situací, jako je například zánět, může dojít ke změně jejich funkce, což vede k abnormálnímu zpracování a zvýšené prezentaci vlastních antigenů. Tato situace může přispět k rozvoji autoimunitních onemocnění. ((Zufferey, A., et al, 2017)

Dendritické buňky jsou považovány za velmi účinné antigen-prezentující buňky (APC), a několik studií naznačuje jejich poškození u ITP. Catani a jeho kolegové zjistili, že dendritické buňky u pacientů s ITP mohou stimulovat proliferaci T-lymfocytů *in vitro* pomocí zvýšené exprese molekuly CD86, která je zapojena do tohoto procesu. (Zufferey, A., et al, 2017)

U pacientů s ITP jsou také postiženy plazmocytoidní dendritické buňky (pDC), které jsou specializované na produkci interferonu typu I (IFN- α a IFN- β). Nižší hladiny cirkulujících pDC u pacientů s primární nebo sekundární ITP spojenou s infekcí *H. pylori* korelují s hladinami krevních destiček, což naznačuje jejich úlohu v patogenezi ITP. (Zufferey, A., et al, 2017)

Naopak, u pacientů s ITP bylo zjištěno snížení hladiny enzymu indoleamin 2,3-dioxygenázy 1 (IDO1) v dendritických buňkách. Toto může ovlivnit přeměnu CD4+ T-lymfocyty na regulační T-lymfocyty (Tregs), což může také hrát roli v patologii ITP. (Zufferey, A., et al, 2017)

V rámci ITP jsou důležité také receptory Toll-like (TLR), které rozpoznávají infekční agens. TLR4 je zapojen do ITP vyvolané LPS zatímco TLR7 asociovaný s dendritickými buňkami indukuje produkci autoantilátok proti destičkám *in vitro*. (Zufferey, A., et al, 2017)

Celkově lze konstatovat, že funkce antigen-prezentujících buněk (APC), zejména dendritických buněk, je u ITP narušena a může výrazně přispívat k aktivaci lymfocytů a autoimunitní patologii. (Zufferey, A., et al, 2017)

V kontextu ITP je pozorováno narušení antigen-představujících buněk, především dendritických buněk (DC). Toto narušení může naznačovat, že dochází k abnormální prezentaci vlastních antigenů, což opět přispívá k neadekvátní stimulaci imunitního systému. V důsledku této poruchy může dojít k aktivaci lymfocytů a rozvoji autoimunitní patologie v rámci ITP. (Zufferey, A., et al, 2017)

4.3.3 Role monocytomakrofágového systému v patogenezi ITP

Opsonizované trombocyty, zejména ty, které interagují s protilátkami IIb/IIIa, jsou zachyceny fagocyty v monocyto-makrofágovém systému prostřednictvím Fc receptorů a předčasně odstraněny z oběhu. Cílem terapeutických intervencí, například při podávání intravenózních imunoglobulinů, je ovlivnění Fc receptorů makrofágů. Tyto receptory jsou však funkčně rozmanitou skupinou, některé z nich mají imunomodulační účinek. Například receptor Fc γ RIIb aktivuje inhibiční, protizánětlivou signální dráhu. Preferovaným místem zachycování trombocytů u ITP je obvykle slezina, ale v některých případech mohou být zachycovány i v játrech (hepatocyty a jaterní makrofágy). Monocyto-makrofágový systém také poskytuje dostatečný počet antigen prezentujících buněk, především dendritických buněk a makrofágů, což iniciuje celý proces ITP. To znamená, že tento systém hraje klíčovou roli jak na začátku, tak na konci patogeneze ITP. Je třeba poznamenat, že hepatocyty hrají nemalou roli v destrukci trombocytů u ITP způsobené protilátkami Ib. Nedostatečná produkce trombocytů představuje další aspekt této komplexní problematiky. (Kozák, 2015)

4.3.4 Omezená tvorba trombocytů

Imunitní trombocytopenie vzniká v důsledku předčasné destrukce trombocytů a relativně nedostatečného doplňování chybějících destiček do periferní krve. Nedostatečná reakce kostní dřeně je způsobena relativním nedostatkem endogenního trombopoetinu a poruchou megakaryopoézy, která je zprostředkována buď protilátkami, nebo přímo cytotoxickými T lymfocyty (CTL). (Kozák, 2015)

Endogenní trombopoetin je glykoproteinový cytokin produkovaný hlavně v játrech a slouží jako hlavní regulátor tvorby trombocytů v kostní dřeni. Jeho receptor, c-MPL, patří mezi protoonkogeny a podporuje proliferaci, diferenciaci a maturaci megakaryocytů. U ITP není produkce trombopoetinu (TPO) nedostatečná; naopak, hladina endogenního TPO je normální nebo jen mírně zvýšená ve srovnání s jinými stavy vedoucími k trombocytopenii, jako je třeba těžká aplastická anémie, kde je hladina TPO v séru zhruba desetkrát vyšší. Na základě těchto poznatků byly provedeny studie zkoumající efekty podání rekombinantního trombopoetinu u modelů ITP a pacientů s touto chorobou, což vedlo k vývoji druhé generace agonistů receptoru pro TPO, používaných v klinické praxi. (Kozák, 2015)

Dalším mechanismem, který způsobuje neefektivní odpověď kostní dřeně na nedostatek trombocytů u ITP, je přímý účinek protilátek na megakaryocyty. *In vitro* studie jednoznačně ukazují na sníženou proliferaci a zrání megakaryocytů v přítomnosti protilátek proti destičkovým glykoproteinům z lidské plazmy. (Kozák, 2015)

4.4 *Symptomy ITP*

Krvácivé projevy se obvykle objevují především u závažnější formy trombocytopenie, avšak nemusí nastat vždy. U trombocytopenie s nižší závažností mohou krvácivé projevy častěji vznikat v situacích, kdy je narušena i další složka krevního srážení, jako je tvorba fibrinogenu, nebo při souvisejících onemocněních (např. vředová choroba žaludku, děložní myomy atd.). (Hluší, A., 2022)

Charakteristické jsou zejména kožně-slizniční projevy krvácení, zahrnující:

- Petechie: drobná krvácení z malých kapilár, projevující se malými červenými skvrnkami na kůži.
- Sufuze, ekchymózy, hematomy: rozsáhlá kožní krvácení.
- Snadná tvorba hematomů (modřin).
- Epistaxe: krvácení z nosu.
- Krvácení z dásní.
- Neúměrné krvácení po běžných kožních poraněních.
- Krvácení do zažívacího traktu: krev ve stolici.
- Krvácení do močového traktu: krev v moči.
- Neúměrně silné menstruační krvácení.
- Výrazné krvácení během chirurgických výkonů.

Někdy mohou být krvácivé projevy méně nápadné a zůstat skryty. Mohou se objevit například po podání léků (např. na ředění krve, antirevmatika) nebo v důsledku přidružených onemocnění (např. některá nádorová onemocnění). Velmi závažná krvácení do centrálního nervového systému jsou u trombocytopenie naštěstí spíše neobvyklá. (Hluší, A., 2022)

4.5 Diagnostika ITP

V současné době neexistuje jednoznačný klinický nebo laboratorní parametr, který by definitivně potvrdil diagnózu ITP. Proto se diagnóza nadále stanovuje vyloučením ostatních možností. Přítomnost ITP může být naznačena zvýšenou destrukcí trombocytů při zachované, ale nedostatečné tvorbě destiček v kostní dřeni. Anamnéza pacienta může pomoci rozlišit infekční, lékovou nebo nádorovou etiologii. Detailní fyzikální vyšetření může odhalit neobvyklé nálezy, jako je lymfadenopatie nebo hepatosplenomegalie, které nejsou typické pro primární ITP. Tato vyšetření také umožňují odhadnout riziko krvácení u konkrétního pacienta. Pokud se izolovaná trombocytopenie objeví náhodně bez známek hemoragické diatézy, je nezbytné v první řadě vyloučit laboratorní artefakt jako je pseudotrombocytopenie. (Chang, J.C., 2018)

U všech pacientů je doporučeno provést manuální diferenciální rozpočet k vyloučení maligního hematologického onemocnění. Následně je vždy nezbytné zvážit možnost trombotické mikroangiopatie (TMA), zejména u těch pacientů, kteří trpí také anémií. (Chang, J.C., 2018)

Negativní přímý antiglobulinový test je také spojen s vzácnými případy PAT negativní autoimunitní hemolytické anémie. Tuto skutečnost je důležité vzít v úvahu u všech pacientů, kteří trpí současným výskytem trombocytopenie a hemolytické anémie. (Tsai, H.M., Lian, E.C., 1998)

4.5.1 Další vyšetření používaná při diagnostice ITP

Ve chvíli, kdy existuje podezření na souvislost s jinými onemocněními, buď na základě klinických nebo laboratorních znaků, doporučuje se provést další diagnostická vyšetření. Pokud existují pochybnosti o normální funkci kostní dřeni, což se může projevit například nízkým podílem nezralých trombocytů (IPF) nebo kvantitativním defektem v jiných krevních složkách, je vhodné podstoupit vyšetření kostní dřeni s cílem vyloučit především myelodysplastický syndrom (MDS). (Verbenský, J. R., et. al., 2019)

Mezi diagnostickými postupy, které nejsou primární, ale mohou poskytnout cenné informace při nedostatečné odpovědi na léčbu v úvodní fázi, se řadí tzv. autoimunitní panel (zahrnující testy na antinukleární protilátky – ANA, anti-ENA, revmatoidní faktor a antifosfolipidové protilátky), dále testy na hormon štítné žlázy (TSH), protilátky proti cytomegaloviru (CMV) a detekci viremie CMV metodou PCR. Důležitým prvkem

vyšetření je také stanovení parvoviru B19 metodou PCR. V případech, kdy existuje odůvodněné podezření, může být prováděno vyšetření zaměřené na průkaz konkrétního typu von Willebrandovy choroby (typ IIb). U nově diagnostikované ITP je též možné provést vyšetření periferní krve pomocí průtokové cytometrie k vyloučení incipientní klonální lymfoproliferace. Je pravděpodobné, že stanovením a specifikací protilátek proti trombocytům (např. anti Ib/IX) nebo exprese některých cytokinů na T lymfocytech bude možné v budoucnu určit míru rezistence na léčbu, například na kortikosteroidy nebo intravenózní imunoglobuliny. (Červinek, L., et al., 2010)

4.6 Léčba ITP

Léčba dospělých pacientů s ITP je předepsána, pokud dojde ke snížení počtu krevních destiček pod hranici $20\text{--}30 \cdot 10^9/l$. V případě výraznějších krvácivých projevů, včetně tzv. vlhké purpury, se zahajuje léčba i při vyšších hodnotách. Je nezbytné přizpůsobit léčbu individuálně, zohlednit věk (věk nad 60 let zvyšuje riziko vážného krvácení), pacientovy preference a jeho životní „rizikový profil“ (např. účast v kontaktních sportech apod.). Důležitá jsou také přidružená onemocnění, jako je komplikovaný diabetes mellitus nebo onemocnění vyžadující antikoagulační léčbu nebo aktivní nádor, který vyžaduje léčbu. (Kozák, T., et al, 2023)

Cílem terapie je prevence krvácení a dosažení bezpečné, i když ne nutně normální hladiny krevních destiček. Současně je důležité vyhýbat se lékům, které mohou ovlivnit funkce destiček, jako je kyselina acetylsalicylová, nesteroidní antirevmatika atd. Při rozhodování o terapeutickém postupu, zejména v pozdějších fázích léčby, je třeba mít na paměti, že protrahovaná kombinovaná imunosupresivní terapie může pacienta poškodit více než samotná trombocytopenie. Mnoha pacientům s diagnostikovanou ITP není podávána žádná léčba, jsou pouze pravidelně kontrolováni. Nejen u dětí, ale také u dospělých pacientů může dojít k spontánní remisi. Proto je smysluplné vyčkat se zahájením léčby u pacientů bez krvácivých projevů, se stabilním počtem destiček nad $30 \cdot 10^9/l$ a bez dalších rizikových faktorů (komorbidita, antiagregační léčba atd.) a pouze je pravidelně sledovat. (Kozák, T., et al, 2023)

4.6.1 Léčba 1. linie

4.6.1.1 Kortikosteroidy

Standardním počátečním léčebným postupem pomocí kortikosteroidů je podávání Prednisonu (nebo jeho ekvivalentu) v dávce 1 mg/kg/den (maximálně 80 mg) a to až do dosažení odpovědi (obvykle ne déle než 2–4 týdny), následované postupným snižováním dávky do úplného vysazení během 6–8 týdnů. V případě nedostatečné odpovědi do 2 týdnů se doporučuje ukončit podávání tohoto léku. Dlouhodobé podávání vysokých dávek (nad 5 mg Prednisonu) se nedoporučuje. Alternativou může být použití dexametazonu v pulzech (40 mg po 4 dny, maximálně 3 cykly) a Solu-Medrol (s účinnou látkou methylprednisolon). Přibližně 70–80 % dospělých pacientů s akutní ITP reaguje pozitivně na kortikosteroidní léčbu v úvodní fázi. Dlouhodobé remise je dosaženo u 25–29 % pacientů. (Palau, J., et al. 2017)

U některých pacientů s ITP může dojít k relapsu onemocnění při postupném snižování dávky kortikosteroidů. Absence nebo ztráta odpovědi na léčbu kortikosteroidy představuje rozhodující indikaci pro zahájení léčby druhé linie. (Palau, J., et al. 2017)

4.6.1.2 Kombinovaná imunosupresivní léčba

Pro pacienty, u kterých je nejvyšší prioritou prevence opakovaných relapsů onemocnění, je možné zvážit kombinovanou imunosupresivní terapii již v první linii, například kombinaci prednisonu a mykofenolátu mofetil. Tato volba je zejména relevantní pro pacienty s vážnými krvácivými projevy, pacienty vyžadujícími dlouhodobou antikoagulační terapii nebo ty, u kterých hrozí dekompenzace stávajícího onemocnění v důsledku vysokých dávek kortikosteroidů. (Bradbury, et al., 2021)

4.6.1.3 Intravenózní imunoglobuliny (IVIG)

Intravenózní imunoglobuliny (IVIG) jsou doporučovány zejména v případech, kdy je nezbytné rychle zvýšit počet trombocytů a preventivně zabránit krvácení. U pacientů s ITP způsobenou protilátkami anti-GPIIb/IX může být účinek IVIG menší. Obvykle se doporučuje dávka 2 g/kg podávaná během dvou dnů (alternativně může být efektivní i 1 g/kg podaný pouze jeden den) nebo 0,4 g/kg po dobu 5 dnů. Ačkoliv IVIG představuje účinnou léčbu, jedním z méně častých, avšak nepříjemných vedlejších účinků vysokých dávek IVIG je aseptická meningitida. Podávání IVIG je vhodné v případech naléhavé

terapie, zejména u dětí a v těhotenství, především v prvním trimestru, kdy není vhodné užívání kortikosteroidů. (Godeau, B., et al., 1993)

4.6.2 Léčba 2. linie

V léčbě druhé linie dospělých pacientů s ITP jsou podle mezinárodního konsenzu nejčastěji používány dva typy léčby: agonisté trombopoetinového receptoru (TPO-RA) nebo rituximab. Volba léků je často ovlivněna celkovým zdravotním stavem pacienta a jeho preferencemi. Pacienti, kteří preferují pokus o dosažení remise krátkodobou léčbou s pravděpodobností odpovědi 61 % a dlouhodobé odpovědi ve 29 % případů, mohou být léčeni rituximabem. Pravděpodobnost odpovědi na rituximab je vyšší u pacientů, kteří alespoň krátkodobě odpověděli na kortikosteroidy. V případě odpovědi a pozdějšího relapsu na léčbu rituximabem je možné opakované úspěšné podání léčby. Splenektomie je indikována nejdříve 12 měsíců po stanovení diagnózy ITP, ale v praxi se často neprovádí. (Kozák, T., et al, 2023)

4.6.2.1 Agonisté TPO receptoru (TPO-RA)

Agonisté receptoru trombopoetinu (TPO-RA) mají v léčbě ITP vysoký stupeň doporučení. Indikací pro použití všech TPO-RA je primární forma ITP, která nereaguje na jiné formy léčby, jako jsou například kortikosteroidy nebo imunoglobuliny. Eltrombopag (Revolade) a romiplostim mají dostatek dat o účinnosti i v raných stádiích ITP (včetně první linie), a proto jsou v těchto situacích doporučovány. (Červinek, L., et al., 2010) Délka podávání TPO-RA je výrazně individuální. Pokud pacient reaguje dobře na léčbu, lze zvážit postupné snižování dávky léku až k úplnému vysazení, dosahující tak trvalé remise bez další potřeby léků. Celková pravděpodobnost dosažení trvalé remise dosahuje až 30 %, přičemž se ukazuje, že podávání agonistů TPO receptoru v raných fázích nemoci má vyšší šanci na úspěšné vysazení léčby. Doporučuje se, aby proces vysazování TPO-RA byl řízen zkušeným lékařem a začal se při počtu trombocytů nad $100 \cdot 10^9/l$. V případě progresu trombocytopenie během vysazování TPO-RA je nezbytné vrátit se k původní dávce léku. Tento postup je vhodné individuálně opakovat, protože dosažení trvalé remise závisí na různých faktorech a přesné prediktory nejsou známy. Z klinické praxe vyplývá, že rychlá a trvalá odpověď na podání agonistů TPO receptoru je nejlepším prediktorem dosažení trvalé remise. (Kozák, T., et al, 2023)

Eltrombopag je malá nepeptidová látka, která, když se podává perorálně v dávce 50- 75 mg/den, funguje jako stimulant tvorby krevních destiček a působí jako agonista trombopoetinu (TPO). Tato látka se váže na polyvalentní kationty, jako je vápník. Aby byla zachována její účinnost, je důležité podávat ji do 4 hodin po konzumaci potravin bohatých na kalcium, například mléčných produktů, nebo méně než 2 hodiny před jídlem. Proto je při léčbě touto látkou doporučen specifický dietní režim. (Kozák, T., et al, 2023)

Romiplostim je Fc-peptidový fúzní protein, který aktivuje intracelulární transkripční dráhy prostřednictvím receptoru trombopoetinu (TPO), čímž zvyšuje tvorbu krevních destiček. Tato látka se aplikuje subkutánně v dávce 1–10 µg/kg/týden. (Kozák, T., et al, 2023)

Avatrombopag je malá nepeptidová molekula, která se podobně jako eltrombopag váže k transmembránové doméně receptoru pro trombopoetin (TPO-R). Indikace pro podání avatrombopagu zahrnují primární chronickou ITP a trombocytopenii u chronického onemocnění jater před invazivními výkony. Na rozdíl od eltrombopagu však podání avatrombopagu nevyžaduje dietní opatření. Doporučená zahajovací dávka je 20 mg (1 tableta) denně s jídlem, a denní dávka by neměla překročit 40 mg (2 tablety). (Kozák, T., et al, 2023)

- ***Doptelet***

Lék Doptelet obsahuje účinnou látku avatrombopag, která působí jako agonista receptoru v trombopoetinové sekvenci receptoru, který je přítomen na povrchu kmenových buněk v kostní dřeni. Tímto mechanismem Doptelet stimuluje tvorbu nových krevních destiček v kostní dřeni a zvyšuje jejich počet v krvi. Tím je zajištěna vyšší srážlivost krve u pacientů s ITP, snížení rizika krvácení a zlepšení celkového zdravotního stavu. Obvykle se lék předepisuje pacientům, které čeká chirurgický zákrok, kde se předpokládá zvýšená krvácivost. Obvyklá počáteční dávka je 50 mg denně, která se podává po dobu 5 dnů. Pokud není zvýšení počtu trombocytů dostatečné, může být dávka zvýšena na 50 mg dvakrát denně po dobu dalších 5 dnů. (Sliva, 2023)

4.6.2.2 Rituximab

Rituximab působí snížením počtu B-lymfocytů, což vede k redukcí produkce autoprotilátek a blokáde retikuloendoteliálního systému. Ve studiích u pacientů s ITP bylo zaznamenáno 40–67 % kompletních léčebných odpovědí po podání rituximabu. Asi 15–29 % pacientů zůstává dlouhodobě v remisi. Léčba rituximabem obvykle probíhá dobře, avšak je důležité upozornit na možné závažné nežádoucí reakce, jako je zvýšená teplota, poruchy srdečního rytmu a vzácně i anafylaxe. Rituximab také zvyšuje riziko aktivace latentních infekcí, včetně hepatitidy typu B a JC virózy (progresivní multifokální leukoencefalopatie – PML). (Červinek, L., et al., 2010) I přesto, že rituximab není oficiálně schválen pro léčbu ITP podle Summary of Product Characteristics (SPC), je ve specializovaných centrech používán, zejména tam, kde je ITP spojena s jiným autoimunitním onemocněním, například Evansův syndrom, systémový lupus erythematosus (SLE) atd. (Gernsheimer, T., et al. 2013)

4.6.3 Léčba refrakterní ITP

Tradičně byla ITP považována za refrakterní, pokud nereagovala na splenektomii nebo pokud došlo k jejímu relapsu po tomto chirurgickém zákroku, a vyžadovala trvalou terapii kvůli krvácivým projevům nebo jejich riziku, včetně udržovacích dávek kortikosteroidů. V současné době se hovoří o refrakterní ITP u pacientů s výraznými krvácivými příznaky a velmi nízkým počtem trombocytů, kteří nereagovali na dvě nebo více léčebných linií. (Miltiados, O. et al. 2020)

4.6.3.1 Principy léčby refrakterní ITP

Pro třetí a další linie léčby ITP jsou doporučeny agonisté trombopoetinového receptoru (TPO-RA), pokud dosud nebyly použity. V případě selhání léčby jedním typem TPO-RA lze zvážit výměnu za typ jiný. Při neúčinnosti TPO-RA nebo při nežádoucích účincích lze kombinovat TPO-RA s nízkými dávkami kortikosteroidů (např. Prednison v dávce do 5 mg/den), případně s imunosupresivy (např. mykofenolát mofetil – MMF). V případě selhání TPO-RA je indikován inhibitor SYK fostamatib. Splenektomie se v současné době v léčbě refrakterní ITP obvykle provádí v pozdějších stádiích, přičemž rozhodnutí o ní závisí na preferencích pacienta. Medikamentózní léčba refrakterní ITP v pokročilých liniích zahrnují tzv. tradiční imunosupresiva, mnohá z nich mají cytostatický účinek. (Kozák, T., et al, 2023)

4.6.3.2 *Seznam léčebných přístupů pro refrakterní imunotrombocytopenii*

Fostamatinib je lék, který inhibuje aktivitu splenické tyrozinokinázy (SYK). Je indikován pro pacienty s chronickou ITP, kteří nereagují na jiné dostupné metody léčby. Tato látka se dobře vstřebává z gastrointestinálního traktu bez potřeby speciální diety. U pacientů s chronickou ITP, kteří jsou refrakterní zejména na trombopoetinové receptorové agonisty (TPO-RA), Fostamatinib vyvolá odpověď u 43 % pacientů, přičemž dlouhodobé odpovědi dosahuje 18 % pacientů. Mezi hlavní nežádoucí účinky Fostamatinibu patří hypertenze, hepatotoxicita a gastrointestinální toxicita, zahrnující průjem. (Bussel, J., et al., 2018)

Rituximab je další lék, který lze použít u refrakterní ITP, buď jako primární terapii u pacientů, kteří ještě nebyli touto látkou léčeni, nebo jako opakovanou léčbu (retreatment) u těch, kteří dosáhli odpovědi na předchozí terapii, jak bylo zmíněno výše. (Kozák, T., et al, 2023)

Následuje seznam látek s imunosupresivním nebo cytostatickým účinkem, seřazených abecedně:

- Azathioprin je prekurzor 6-merkaptopurinu, což je antimetabolit blokuje lymfocytární proliferaci. Standardní dávkování se pohybuje v rozmezí 1 - 2 mg/kg/den. Je důležité monitorovat především jaterní toxicitu a neutropenii. Léčebný účinek azathioprinu se projevuje postupně, a proto by selhání terapie nemělo být hodnoceno před uplynutím šestiměsíčního podávání. (Kozák, T., et al, 2023)
- Cyklosporin A je kalcineurinový inhibitor, který potlačuje proliferaci T-lymfocytů. Obvyklá dávka se pohybuje mezi 2,5–3 mg/kg/den a často se podává v kombinaci s kortikosteroidy. Jeho terapeutický účinek je pozorovatelný po 2–3 týdnech podávání. Používání cyklosporinu A je limitováno nežádoucími účinky, jako jsou zvýšený krevní tlak a nefrotoxicita. (Červínek, L., et al., 2010)
- Cyklofosfamid je alkylující látka používaná jako imunosupresivum či cytostatikum. Dávkování u pacientů s ITP se obvykle pohybuje mezi 1–2 mg/kg/den perorálně nebo v pulzech parenterálně. Kvůli svému mutagennímu potenciálu se nedoporučuje pro mladší pacienty. (Červínek, L., et al., 2010)

- Danazol je slabý androgen, jehož mechanismus účinku spočívá pravděpodobně v ovlivnění Fc-receptoru. Doporučené dávkování se pohybuje od 400 do 800 mg denně, ale účinné výsledky byly zaznamenány i při dávkování 100–200 mg denně. Danazol je obvykle dobře snášen a často se používá u starších pacientů k úlevě od kortikosteroidní léčby. (Kozák, T., et al, 2023)
- Dapson (diaminodifenyl sulfon) je sulfonamidové antibiotikum původně určené pro kombinovanou terapii lepry. Jeho antiflogistický účinek byl zkoumán v dermatologii, ačkoliv byl testován i u pacientů s chronickou ITP v dávce 75 - 100 mg/den. Dapson se často používá ve spojení s kortikosteroidy a umožňuje snížit celkovou dávku kortikosteroidů. Jeho léčebný účinek přetrvává pouze při trvalém podávání. (Kozák, T., et al, 2023)
- Mykofenolát mofetil je prekurzorem kyseliny mykofenolové a funguje jako kompetitivní inhibitor inosin-50-monofosfátdehydrogenázy, klíčového enzymu v biosyntéze purinů. Obvyklé dávkování se pohybuje v rozmezí 1–2 g/den, a nástup účinku lze pozorovat po 3–4 týdnech podávání. (Červinek, L., et al., 2010)
- Vinka-alkaloidy (vinkristin, vinblastin) jsou cytostatika, která blokuje funkci mikrotubulů. (Kozák, T., et al, 2023)

4.6.4 Substituce transfuzními přípravky

Podání trombocytárního koncentrátu je u ITP doporučeno pouze v případě život ohrožujícího krvácení. Podávání transfuzního přípravku je obvykle prováděno společně s vysokými dávkami intravenózních kortikosteroidů a imunoglobulinů (IVIG). Trombocytární transfuzní přípravek může být také podán před chirurgickým zákrokem, například před splenektomií. (Kozák, T., et al, 2023)

4.6.5 Léčba vážného nebo život ohrožujícího krvácení u pacientů s ITP

U pacientů s vážným nebo život ohrožujícím krvácením se doporučuje agresivní léčba, která zahrnuje kombinaci intravenózních kortikosteroidů s intravenózním podáním imunoglobulinu (IVIG) a transfúzi destičkových přípravků. Cílem této léčby je rychlé zvýšení a udržení počtu destiček v bezpečném rozmezí (nad $30\text{--}50 \cdot 10^9/l$). U pacientů s dlouhodobě nízkým počtem destiček pod $30 \cdot 10^9/l$ je možné zvážit podání látek

stimulujících produkci destiček (TPO-RA). V případě trvajících krvácení, které nereaguje na standardní léčbu, může být indikováno podání rekombinantního aktivovaného faktoru VII (rFVIIa). Definice život ohrožujícího krvácení: Hodnocení závažnosti krvácení je často subjektivní. Může být usnadněno použitím skórovacího systému, který vychází z fyzikálního vyšetření a pomáhá určit potřebu léčby v situaci, kdy hrozí ohrožení života pacienta. (Provant, D., et al. 2019)

4.6.6 Hodnocení léčebné odpovědi

Léčbu ITP hodnotíme na základě výsledků dvou nebo více krevních obrazů, které jsou odebrány s minimálně sedmidenním odstupem, zejména při posuzování stavu kompletní remise. V případě neúspěchu terapie nebo ztráty léčebné odpovědi postačuje hodnocení v odstupu jednoho dne. (Kozák, T., et al, 2023)

5 Cíl práce

Pro tuto bakalářskou práci byly stanoveny následující cíle:

- 1) Porovnat jednotlivé typy léčby a její účinnost.
- 2) Stanovení průměrné hodnoty počtu trombocytů u pacientů bez léčby ITP, s léčbou 1. linie a s léčbou 2. linie. Dále procentuální zastoupení pacientů bez léčby, s léčbou 1. linií a 2. linií.
- 3) Sledovat vývoj počtu trombocytů při farmakoterapii u ITP. (S ohledem na skladbu pacientů navštěvujících krajské zdravotnické zařízení, kterým je Nemocnice Jihlava p.o.)

5.1 Výzkumné otázky:

- 1) Dochází u léčené ITP k nárůstu trombocytů?
- 2) Jaké benefity mají nové metody farmakoterapie ITP oproti původním?

6 Metodika

Analyzované vzorky jsem měřil na Hematologicko-transfúzním oddělení Nemocnice Jihlava. Ve spolupráci s odborným personálem z hematologické ambulance jsem si náhodně vybral 30 pacientů s diagnostikovaným onemocněním ITP. S jejich souhlasem a s pomocí ošetřujícího lékaře mi byla popsána anamnéza a proces léčby těchto pacientů. Následně jsem při každé následující návštěvě pacienta v hematologické ambulanci, provedl měření kontrolního krevního obrazu na analyzátoch Sysmex řady XN (obr. 11). Naměřené hodnoty počtu trombocytů jsem si zaznamenával a následně provedl jejich vyhodnocení. Proces zpracování vzorků je uveden v kapitole 6.1 a 6.2. Třetí cíl jsem pojal formou kazuistik, u pěti pacientů jsem sledoval růst trombocytů při nasazení určitého léku.



Obrázek 11 - Analyzátor sysmex XN (zdroj - vlastní)

6.1 Preanalytická fáze

6.1.1 Postup při odběru krve

Odběr krve je stěžejním bodem preanalytické fáze vyšetření. V průběhu této fáze dochází k největšímu procentu chyb, proto je tedy nutné pečlivě dodržovat předepsané postupy.

- Před samotným odběrem je důležité provést hygienickou dezinfekci rukou a použít ochranné pracovní pomůcky. Sestra před provedením samotného odběru

důkladně ověří identitu pacienta aktivním dotazem na jeho jméno, příjmení a datum narození.

- Samotný odběr krve je prováděn do předem označené zkumavky. Identifikační štítek na zkumavce musí obsahovat jméno a příjmení pacienta, číslo pojištění a příp. název oddělení.
- Údaje na zkumavce se musí shodovat s identifikačními údaji na žádance. Dále by žádanka o laboratorní vyšetření měla obsahovat: číselný kód diagnózy, kód zdravotní pojišťovny pacienta, název žádajícího oddělení a razítko s IČZ, jméno a kontaktní údaje ordinujícího lékaře a požadavky na daná vyšetření. V případě mé práce se jednalo o požadavek na vyšetření krevního obrazu, jehož součástí je stanovení počtu trombocytů.
- Sestra vybere vhodnou zkumavku pro daný odběr, pro vyšetření krevního obrazu se používá zkumavka s fialovým (purpurovým) víčkem s protisrážlivým činidlem K3EDTA.
- Dále sestra vybere vhodné místo pro vpich a provede důkladnou dezinfekci.
- Při odběru u pacientů s dobře viditelnými žilami postačí krátké zatažení paže. V případě obtížněji dostupných žilních struktur je možné přistoupit ke krátkodobému stáhnutí paže nebo předchozímu tzv. „cvičení“ paží.
- Po odběru je důležité dobře promíchat obsah zkumavky několikerým otočením zkumavky dnem vzhůru, se zkumavkou nikdy netřepeme. Tento krok je nezbytný pro dobré promíchání krve s protisrážlivým činidlem, v opačném případě by mohlo dojít ke vzniku sraženiny. Po vyjmutí jehly je důležité přiložit tampon a přimáčknot ranku po vpichu, aby se zamezilo vytvoření modřiny. Nakonec místo po odběru přelepíme náplastí.
- Po odběru je provedena likvidace kontaminovaných pomůcek dle předpisů „Zacházení s infekčním odpadem“.
- V případě komplikace během odběru je důležité informovat laboratoř, případně i lékaře. Před doručením vzorku krve do laboratoře naposledy sestra zkontroluje shodu a úplnost údajů na žádankách a zkumavkách.

6.1.2 Přijetí vzorku do laboratoře

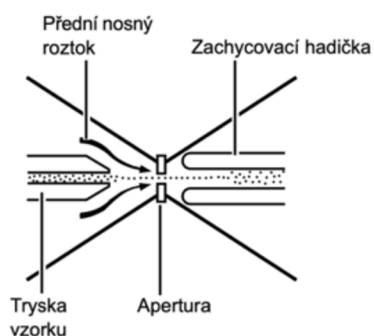
Při příjmu materiálu laboratoři je odborným personálem prováděna kontrola shody identifikačních údajů pacienta na zkumavce a přiložené žádance. V případě shody je žádance v laboratoři přiřazeno laboratorní číslo zadáním do laboratorního informačního systému. Jsou vytištěny štítky s identifikačními údaji pacienta a s čárovým kódem, který obsahuje informaci o pacientovi a požadovaných vyšetřeních. Tímto štítkem je označena příslušná zkumavka s krví daného pacienta a následně je umístěna na laboratorní válečkovou třepačku, kde je po dobu deseti minut pečlivě promíchána.

6.2 Analytická fáze

6.2.1 Metody stanovení počtu trombocytů na analyzátoru Sysmex řady XN

6.2.1.1 Impedanční metoda

Automatické hematologické analyzátory Sysmex řady XN využívají ke stanovení počtu erytrocytů a trombocytů metodu impedanční detekce s usměrněním částic proudem nosné kapaliny. Nasátá krev se částečně oddělí a následně se zředí stanoveným poměrem ředícího roztoku. Z tohoto ředění se určité množství přeneso do detekční komory, kde projde malým otvorem, zvaným apertura. Elektrody na obou stranách apertury umožňují průchod stejnosměrného proudu. Při průchodu krevních buněk suspendovaných v ředícím roztoku se mění odpor proudu mezi elektrodami. Tato změna odporu generuje elektrický impuls, jehož velikost je úměrná k velikosti krvinky. Tyto elektrické signály jsou převedeny na grafické zobrazení distribučních křivek objemu nebo histogramů. Po opuštění ústí vzorkovacího zařízení jsou krvinky obklopeny nosnou kapalinou ředícího roztoku, což snižuje interferenční chyby a umožňuje lepší detekci pulzů abnormalit. Krvinky jsou uspořádány a směřovány ke středu otvoru, což minimalizuje riziko opakované cirkulace a změnu počtu krevních destiček. Tato technika je nazývána hydrodynamická fokusace (obr. 12). (Sysmex, 2022)



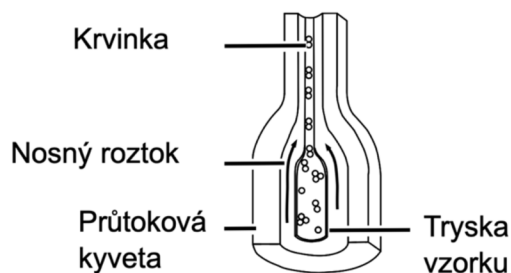
Obrázek 12 - Hydrodynamická fokusace (zdroj – SYSMEX, 2022)

6.2.1.2 Optická metoda

Optické měření je zprostředkováno metodou průtokové fluorescenční cytometrie. Průtoková cytometrie umožňuje detailní zkoumání struktur při jejich průchodu extrémně tenkými průtokovými kvyetami (obr. 13). Pro analýzu vzorků krve jsou vzorky aspirovány a následně naředěny na stanovený poměr a obarveny a posléze naplněny do průtokových kvyet. (Sysmex, 2022)

Mechanismus hydrodynamického zaměřování v průtokové cytometrii výrazně zvyšuje přesnost a konzistenci určování počtu buněk. Díky sériovému průchodu buněk přes střed průtokové kvyety je minimalizována tvorba abnormálních impulsů krvinek a snižuje se riziko kontaminace průtokové kvyety. (Sysmex, 2022)

Svazek polovodičového laseru (s vlnovou délkou 633 nm) je vyzařován směrem k průchodu krvinek přes průtokovou kvyetu. Dopředný a boční rozptyl světla je zachycen fotodiodami, zatímco boční fluorescenční světlo je detekováno pomocí fotodiody avalanche. Toto světlo je konvertováno na elektrické impulzy, což umožňuje získání důležitých informací o vlastnostech krvinek. (Sysmex, 2022)



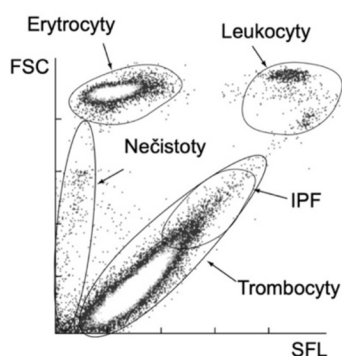
Obrázek 13 - Průtoková kvyeta (zdroj – SYSMEX, 2022)

6.2.1.3 Kanál PLT-F

Kanál PLT-F slouží k přesnému určení počtu trombocytů, což je důležité zejména při jejich nízkých hodnotách. (Sysmex, 2022)

Princip měření v tomto kanálu spočívá v pronikání fluorescenční značky dovnitř trombocytu, kde se váže na jaderné a cytoplazmatické struktury obsahující nukleové kyseliny. Následně jsou trombocyty vyhodnoceny na základě objemu a intenzity fluorescence. Během průtokové cytometrie s využitím polovodičového laseru se vytváří dvourozměrný scattergram (obr. 14), kde jedna osa reprezentuje intenzitu bočního fluorescenčního světla a druhá intenzitu rozptylu světla v malém úhlu. Tento scattergram zobrazuje skupiny trombocytů, části erytrocytů, části leukocytů a nečistoty. (Sysmex, 2022)

Hodnota IPF je získána jako poměr počtu trombocytů nacházejících se v oblasti s vysokou intenzitou fluorescenčního světla v grafu PLT-F (označené jako zóna IPF) k celkovému počtu trombocytů. (Sysmex, 2022)



Obrázek 14 - scattergram (zdroj – SYSMEX, 2022)

6.2.1.4 Mikroskopické metody

Mikroskopické metody pro počítání trombocytů v krvi lze rozdělit na přímé a nepřímé, přičemž obě tyto metody nesou určitou míru chybovosti. (Fons, 2022 [online])

V případě nepřímé metody se odhaduje počet trombocytů z krevního nátěru. Tento odhad vychází z určení počtu trombocytů na 1000 erytrocytů, a výsledek je následně přepočítán na počet erytrocytů v celkovém objemu krve. (Fons, 2022 [online])

Při přímé metodě je vzorek krve naředěn v předem stanoveném poměru s ředícím roztokem a následně jsou trombocyty spočítány v přesně definovaném objemu pod mikroskopem po naplnění suspenze do speciální komůrky. Získaný počet trombocytů se poté vynásobí ředícím koeficientem a přepočte se na objem v jednom litru krve. Oblíbenou komůrkou pro tuto metodu je Bürkerova komůrka, jako ředící roztok se často používá oxalát amonný nebo prokain (metoda dle Piettových). Účelem ředícího roztoku je jak naředění vzorku krve, tak zajištění hemolýzy erytrocytů. Manuální metoda s využitím fázového kontrastu patří mezi zlatý standard, i když nese vyšší míru chybovosti. (Fons, 2022 [online])

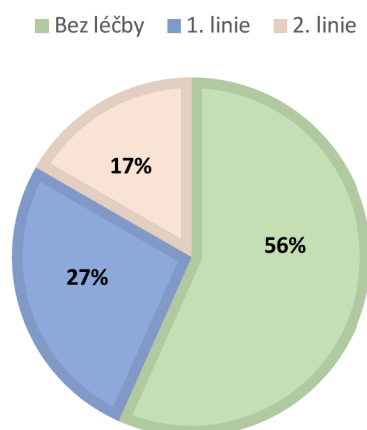
7 Výsledky

7.1 Porovnání jednotlivých typů léčby a jejich účinnost

- 1) Glukokortikoidy (např. Prednison, Solu-Medrol): Tyto léky (1. linie) snižují zánět a potlačují imunitní reakci, což může pomoci zvýšit počet destiček. Jsou obvykle účinné a působí rychle, ale při dlouhodobém užívání mohou mít nežádoucí vedlejší účinky.
- 2) Intravenózní imunoglobuliny (IVIg): Tento léčebný přístup (1. linie) spočívá v intravenózním podávání koncentrovaných lidských imunoglobulinů. IVIg mohou u některých pacientů dočasně zvýšit počet destiček, ale účinek může být pouze dočasný a podávání infuzí je v tomto případě nutné opakovat.
- 3) Rituximab: Tento lék (2. linie) cíleně potlačuje funkci určitých buněk imunitního systému, včetně těch, které jsou zodpovědné za destrukci destiček u ITP. Rituximab může být účinný u pacientů, kteří neodpovídají na jiné typy léčby, nebo u pacientů s chronickou formou onemocnění.
- 4) Agonisté trombopoetinového receptoru (TPO-RA) - např. Romiplostim, Eltrombopag (2. linie). Tyto léky stimulují produkci krevních destiček v kostní dřeni, napodobováním účinku trombopoetinu. TPO-RA mohou být účinní u pacientů s ITP, kteří neodpovídají na jiné typy léčby nebo u pacientů s chronickou formou onemocnění.

7.2 Procentuální rozdělení pacientů s ITP dle typu léčby

PROCENTUÁLNÍ ZASTOUPENÍ PACIENTŮ BEZ LÉČBY, S LÉČBOU 1. LINIE A 2. LINIE



Obrázek 15 – Procentuální rozdělení pacientů s ITP dle typu léčby (zdroj – Vlastní)

Závěr: Jak můžeme vidět na obrázku číslo 15 je z 30 pacientů - 56 % pacientů bez léčby, 27 % pacientů s léčbou 1. linie a 17 % pacientů s léčbou 2. linie

7.3 Pacienti bez léčby.

Všechna měření u jednotlivých pacientů byla provedena s odstupem přibližně jednoho měsíce.

Tabulka 1 - Pacienti bez léčby.

BEZ LÉČBY				
PACIENT	NAMĚŘENÝ POČET PLT (*10 ⁹ /l)			PRŮMĚR POČTU PLT (*10 ⁹ /l)
1.	78	104	137	106
2.	80	54	62	65
3.	129	116	137	127
4.	106	91	103	100
5.	83	78	86	82
6.	127	119	117	121
7.	108	88	70	89
8.	131	129	131	130
9.	126	102	113	114
10.	117	95	127	113
11.	95	65	78	79
12.	158	154	154	155
13.	126	134	131	130
14.	81	121	92	98
15.	115	121	136	124
16.	85	81	75	80
17.	93	74	101	89
PRŮMĚRNÁ HODNOTA PLT				106

zdroj – vlastní

7.4 Pacienti s léčbou 1. linie

Tabulka 2 – Pacienti s léčbou 1. linie

1. LINIE				
PACIENT	NAMĚŘENÉ PLT (*10 ⁹ /l)			PRŮMĚR PLT (*10 ⁹ /l)
1.	65	43	44	51
2.	41	88	111	80
3.	41	79	114	78
4.	58	44	50	51
5.	74	54	78	69
6.	63	71	87	74
7.	36	94	107	79
8.	64	42	82	63
PRŮMĚRNÁ HODNOTA PLT				68

zdroj – vlastní

7.5 Pacienti s léčbou 2. linie

Tabulka 3 - Pacienti s léčbou 2. linie

2. LINIE				
PACIENT	NAMĚŘENÉ PLT (*10 ⁹ /l)			PRŮMĚR PLT (*10 ⁹ /l)
1.	48	56	72	59
2.	54	59	112	75
3.	0	1	2	1
4.	28	30	34	31
5.	52	42	47	47
PRŮMĚRNÁ HODNOTA PLT				42

zdroj – vlastní

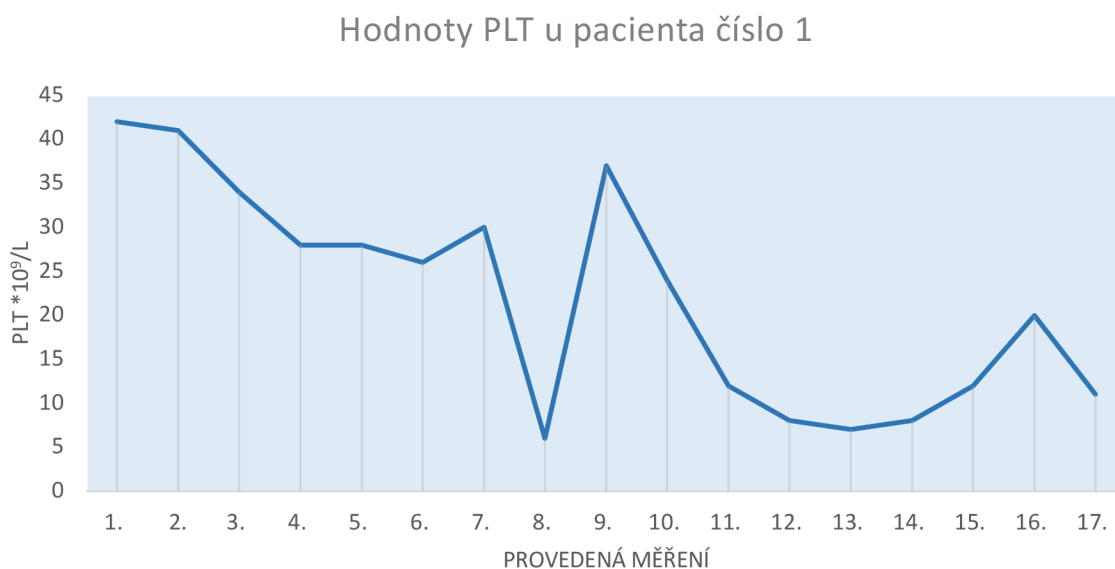
Závěr: V tabulkách číslo 1, 2 a 3 jsou naměřené počty trombocytů u pacientů bez léčby s léčbou 1. linie a 2. linie. Dále jsou uvedeny průměrné hodnoty trombocytů. Jak můžeme

vidět, tak průměrná hodnota trombocytů bez léčby je $106 \cdot 10^9/l$, v případě léčby 1. linie je to $68 \cdot 10^9/l$ a 2. linie to je $42 \cdot 10^9/l$.

7.6 Kazuistiky pacientů s ITP

7.6.1 Pacient číslo 1

Pacientka ročník 1978 přichází do hematologické ambulance na doporučení praktického lékaře s krvácivými projevy. Po změření krevního obrazu je počet trombocytů $42 \cdot 10^9/l$ a hodnota IPF 3 %. Doporučena další vyšetření. Následně je lékařem stanovena diagnóza ITP a naordinován lék Revolade. Následuje několik kontrol, při jedné pacientka přiznává vysazení léku Revolade. Dále apelováno užívat Revolade.



Obrázek 16 - hodnoty PLT pacienta číslo 1. (zdroj – vlastní)

7.6.1.1 Provedená měření k obrázku číslo 16.

1. Návštěva hematologické ambulance, zhotovení krevního obrazu.
2. Diagnostikovaná ITP a nasazen lék Revolade.
3. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
4. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
5. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.

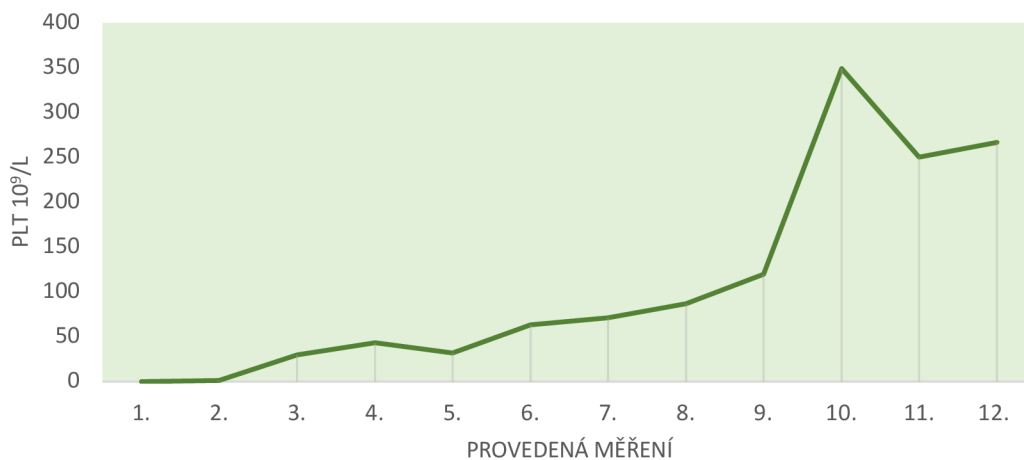
6. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
7. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
8. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
9. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
10. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
11. Další návštěva hematologické ambulance. Pacientka přiznává že neužívala lék Revolade. Doporučení nadále užívat Revolade.
12. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
13. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
14. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
15. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
16. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.
17. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Revolade.

Závěr: V tomto případě není možné stanovit účinnost léku, protože pacientka neužívala lék Revolade.

7.7 Pacient číslo 2

Pacient ročník 1991 přichází do hematologické ambulance na doporučení praktického lékaře pro petechiální výsev na těle. Po změření krevního obrazu je počet trombocytů $0 \cdot 10^9/l$ a IPF 1 %. Doporučena další vyšetření. Po důkladném zhodnocení lékařem stanovena diagnóza těžká ITP. Naordinována kortikoterapie, lék Prednison. Při další návštěvách výrazný nárůst trombocytů. Při hodnotě trombocytů $350 \cdot 10^9/l$, bylo přistoupeno k postupnému vysazování léku s pravidelnými kontrolami v hematologické ambulanci. V současné době pacient nepocítuje žádné obtíže a pokračuje bez další léčby.

Hodnoty PLT u pacienta číslo 2



Obrázek 17 - hodnoty PLT pacienta číslo 2. (zdroj – vlastní)

7.7.1.1 Provedená měření k obrázku číslo 17.

1. Návštěva hematologické ambulance, zhotovení krevního obrazu.
2. Diagnostikovaná ITP a nasazen lék Prednison.
3. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
4. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
5. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
6. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
7. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
8. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
9. Další návštěva hematologické ambulance, doporučení nadále užívat Prednison.
10. Další návštěva hematologické ambulance, normalizace počtu PLT, proto je přistoupeno k postupnému vysazování Prednisonu
11. Další návštěva hematologické ambulance, počet PLT v normě, doporučeno pokračovat bez léčby.

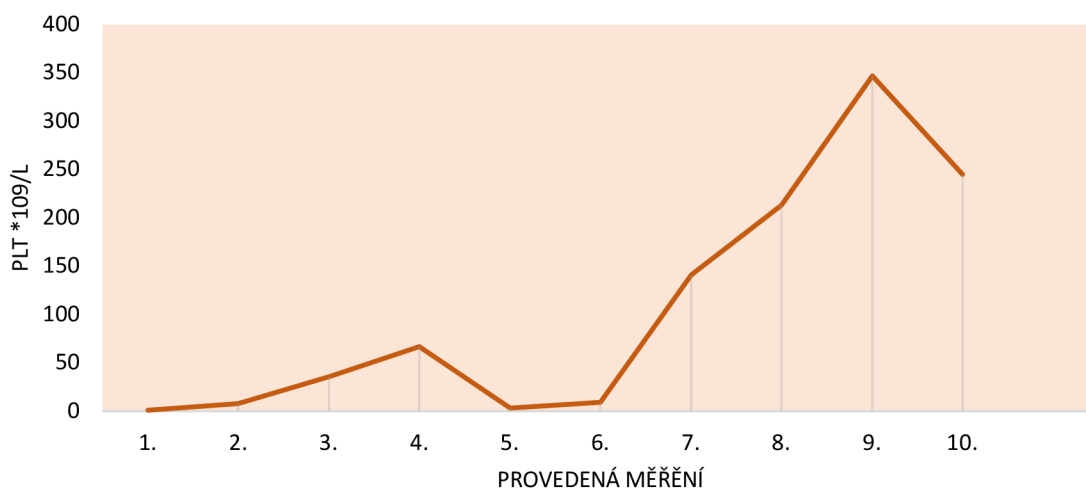
12. Další návštěva hematologické ambulance, počet PLT v normě, stále doporučeno pokračovat bez léčby.

Závěr: U tohoto pacienta je pozorována úspěšná léčba pomocí léku Prednison. Je patrné, že léčebný režim dosáhl normalizace počtu trombocytů, což umožnilo postupné ukončení podávání tohoto léku.

7.8 Pacient číslo 3.

Pacientka ročník 1963 je hospitalizovaná na interním oddělení kvůli krvácení z nosu a petechiálnímu výsevu na těle, zažádáno o hematologické konzilium. Po změření krevního obrazu je počet trombocytů $1 \cdot 10^9/l$ a IPF 32,3 %. Doporučena další vyšetření. Po důkladném zhodnocení lékařem stanovena diagnóza těžká ITP. Ihned nasazená kortikoterapie lék Solu-Medrol a podán jeden trombokoncentrát. Po zlepšení stavu propuštěna a předána do péče hematologické ambulance. Nadále užívá lék Solu-Medrol. Po několika návštěvách hematologické ambulance navýšení počtu trombocytů a lék postupně vysazen. Nadále chodí na pravidelné kontroly.

Hodnoty PLT u pacienta číslo 3.



Obrázek 18 - hodnoty PLT pacienta číslo 3. (zdroj – vlastní)

7.8.1.1 Provedené měření k obrázku číslo 18.

1. Hospitalizace na interním oddělení a hematologické konzilium.
2. Nasazen lék Solu-Medrol a podána jedna transfúze trombocytů.

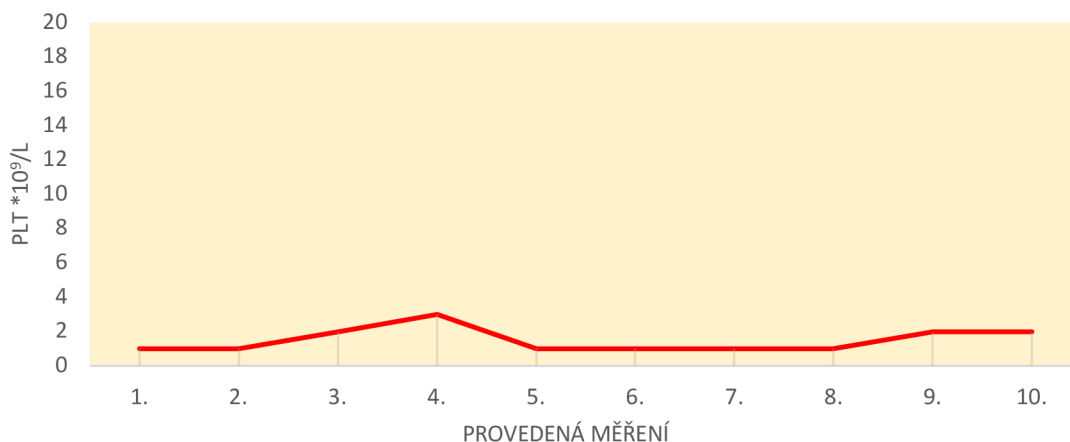
3. Pokračování v léčbě
4. Zlepšení stavu a propuštění z nemocnice
5. Návštěva hematologické ambulance zhoršení počtu trombocytů, nadále doporučeno užívat lék Solu-Medrol.
6. Návštěva hematologické ambulance zhoršení počtu trombocytů, nadále doporučeno užívat lék Solu-Medrol.
7. Návštěva hematologické ambulance zlepšení počtu trombocytů, nadále doporučeno užívat lék Solu-Medrol.
8. Návštěva hematologické ambulance zlepšení počtu trombocytů, nadále doporučeno užívat lék Solu-Medrol.
9. Návštěva hematologické ambulance zlepšení počtu trombocytů. Vysazení léku Solu-Medrol z důvodu normálního počtu PLT
10. Další návštěva hematologické ambulance, pokračovat bez léčby.

Závěr: U této pacientky je pozorována úspěšná léčba pomocí léku Solu-Medrol. Je patrné, že léčebný režim dosáhl normalizace počtu trombocytů, což umožnilo postupné vysazení tohoto léku.

7.9 Pacient číslo 4.

Pacientka ročník 1964, dlouhodobě dochází do hematologické ambulance pro ITP, již od dětství trpí trombocytopenií. V minulosti na cyklofosfamidu + kortikoidech bez efektu, dále užíván Fostamatinib. V současné době nasazen N plate a Fostamatinib vysazen.

Hodnoty PLT u pacienta číslo 4.



Obrázek 19 - hodnoty PLT pacienta číslo 3. (zdroj – vlastní)

7.9.1.1 Provedená měření k obrázku číslo 19.

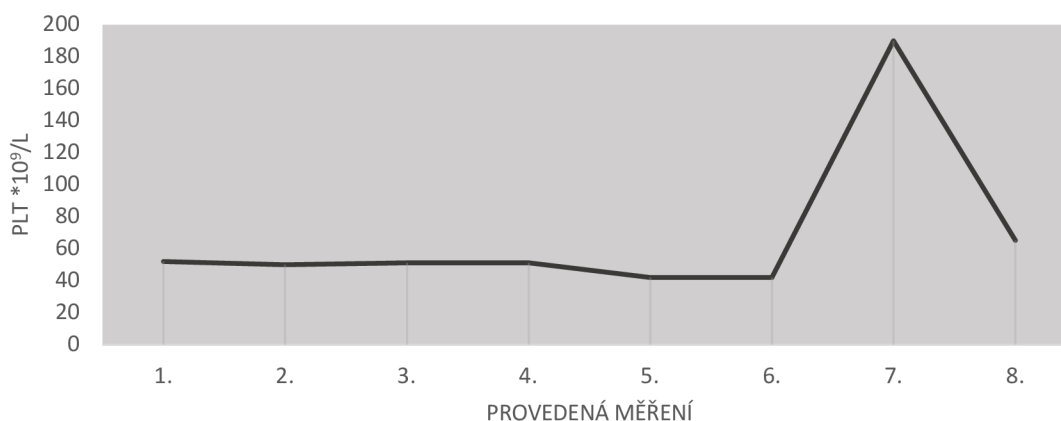
1. - 10. – pravidelná návštěva hematologické ambulance

Závěr: U této pacientky, se jedná o refrakterní onemocnění (pacientka nereaguje na žádný typ léčby) nedochází tedy k navýšení počtu trombocytů. Pacientka však nemá žádné krvácivé projevy, což lze vysvětlit přítomností velké frakce neznalých retikulovaných trombocytů (IPF), jejichž počet se pohybuje v průměru okolo 34,4 % (fyziologické meze 1,0 – 4,8 %).

7.10 Pacientka číslo 5

Pacinka ročník 1944 již dlouhodobě sledována v hematologické ambulanci pro ITP. Vzhledem nepřítomnosti krvácivých projevů je pacientka bez léčby. Do ambulance přichází z důvodu plánované extrakce zubů. Kvůli zvýšenému riziku krvácení při zákroku je doporučeno užívat Doptelet k navýšení počtu trombocytů.

Hodnoty PLT u pacienta číslo 5.



Obrázek 20 - Hodnoty PLT u pacienta číslo 5. (zdroj – vlastní)

7.10.1.1 Provedená měření k obrázku číslo 20.

1. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci.
2. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci.
3. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci.
4. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci.
5. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci.
6. Pravidelná kontrola v hematologické ambulanci, nasazen lék Doptelet, z důvodu plánované extrakce zubů.
7. Kontrola těsně před provedením zákroku extrakce zubů.
8. Kontrola po extrakci zubů, lék již vysazen.

Závěr: U této pacientky můžeme sledovat při nasazení léku Doptelet normalizaci počtu trombocytů. Na tomto příkladu je vidět vliv tohoto léku u pacienta s ITP, u kterého je nutné navýšení počtu trombocytů před provedením lékařského zákroku spojeného s rizikem krvácení.

8 Diskuse

ITP může být vážné onemocnění, zejména u pacientů s těžkými krvácivými projevy nebo komplikacemi spojenými s léčbou. Trombocytopenie, která je charakteristická pro ITP, může vést k riziku spontánních krvácení a hemoragií, které mohou ohrozit život pacienta, zejména pokud není adekvátně řešena.

Závažnost ITP může být ovlivněna několika faktory, počtem trombocytů, přítomností krvácivých projevů, jako jsou petechie, modřiny nebo krvácení z nosu nebo dásní, a reakce na léčbu. U některých pacientů může být ITP asymptomatická, nevyžadující aktivní léčbu, zatímco u jiných pacientů je nutný léčebný režim k prevenci krvácivých projevů.

Důležitým faktorem je také vliv ITP na kvalitu života pacienta. Chronická trombocytopenie a nejistota spojená s rizikem krvácení mohou mít významný dopad na fyzické, emocionální a sociální blaho pacientů. Proto je důležité brát v úvahu celkový vliv onemocnění při rozhodování o léčbě.

Léčba idiopatické trombocytopenické purpury je komplexní a vyžaduje individuální přístup k pacientovi. Hlavním cílem léčby je dosáhnout stabilizace počtu trombocytů a minimalizace rizika krvácivých komplikací. Kortikosteroidy, jako je Prednison nebo Solu-Medrol, jsou často první linií léčby a mohou rychle zvýšit počet trombocytů snížením imunitní odpovědi. Avšak jejich dlouhodobé užívání může být spojeno s výskytem nežádoucích vedlejších účinků, jako je např. osteoporóza nebo častý výskyt infekčních onemocnění.

Intravenózní imunoglobuliny (IVIg) jsou další možností, která může dočasně zvýšit hladinu trombocytů u pacientů s akutními krvácivými projevy. Tyto imunoglobuliny obsahují protilátky, které blokují destrukci trombocytů imunitním systémem.

U pacientů, kteří nereagují na kortikosteroidy nebo IVIg, může být zvažována imunosupresivní léčba, jako je Azathioprin nebo Rituximab. Tyto léky mohou potlačit imunitní odpověď a snížit rozpad trombocytů.

V těžších případech nebo u pacientů s recidivující ITP může být nutná chirurgická intervence, jako je splenektomie. Odstranění sleziny může zabránit snižování počtu

trombocytů a zlepšit stav pacienta. Je ale spojeno s vyšším rizikem výskytu infekcí a dlouhodobých komplikací u pacienta.

Nové léčebné možnosti, jako jsou agonisté trombopoetinového receptoru eltrombopag, nabízejí alternativu pro pacienty, kteří neodpovídají na standardní terapii. Tyto léky stimulují tvorbu trombocytů v kostní dřeni a mohou vést k trvalému zvýšení jejich počtu.

Důležitým aspektem řízení ITP je pravidelné sledování a hodnocení odpovědi na léčbu. Monitorování počtu trombocytů a příznaků krvácení umožňuje lékařům upravit léčbu podle individuálních potřeb každého pacienta. Je také důležité informovat pacienty o jejich onemocnění a zapojit je do rozhodovacího procesu ohledně léčby. Vzhledem k variabilitě projevů a odpovědí na léčbu je nezbytné provádět důkladné zhodnocení každého případu ITP a přizpůsobit léčbu podle aktuálního klinického stavu pacienta.

Závěrem lze říct, že i když ITP může být vážným onemocněním s potenciálně závažnými následky, se správně zvolenou a nastavenou léčbou může být dosaženo remise pacienta a zlepšení kvality jeho života. Individuální přístup k léčbě, pravidelné monitorování a komunikace mezi lékařem a pacientem jsou klíčové pro efektivní řízení ITP a minimalizaci jejího dopadu na každodenní život.

9 Závěr

Prvním cílem bylo porovnat jednotlivé typy léku. Každý pacient může reagovat na léčbu jinak a účinnost léků se může lišit v závislosti na individuálních faktorech. Je důležité, aby léčbu ITP sledoval a řídil lékař. Výběr léčby se často řídí závažností příznaků, potřebou zvýšení počtu trombocytů a individuálními faktory každého pacienta.

Druhým cílem bylo zjištění procentuálního zastoupení pacientů bez léčby, s léčbou 1. linie a 2. linie. Dále průměrné hodnoty trombocytů u pacientů bez léčby ITP, s léčbou 1. linie a s léčbou 2. linie. Jak jsem se mohli dočíst v kapitole 7.3 a 7.4. Zjistil jsem že z 30 pacientů je 56 % pacientů bez léčby, 27 % pacientů na léčbě první linie a 17 % pacientů na léčbě druhé linie. Dále, že průměrná hodnota trombocytů u pacientů bez léčby je $106 \cdot 10^9/l$, v případě léčby 1. linií je to $68 \cdot 10^9/l$ a 2. linií je to $42 \cdot 10^9/l$.

U třetího cíle jsem sledoval vliv léčby na růst trombocytů, zde bylo vidět že při správné léčbě a jejím dodržování můžeme pozorovat nárůst trombocytů. Důležitým aspektem léčby ITP je individuální přístup k pacientovi, zohledňující jeho věk, zdravotní stav, symptomy a přítomnost komorbidit. Pravidelné sledování a hodnocení odpovědi na léčbu jsou klíčové pro správné řízení této choroby.

Nové metody farmakoterapie idiopatické trombocytopenické purpury, včetně trombopoetinových receptorových agonistů a léčby monoklonálními protilátkami, nabízejí cílenější účinek, méně vedlejších účinků, dlouhodobou účinnost a možnost individualizovaného přístupu. Tyto inovativní přístupy mohou významně zlepšit kvalitu života pacientů trpících ITP.

10 Zdroje

1. BRADBURY, C. A., PELL, J., HILL, Q., et al. Mycophenolate Mofetil for First-Line Treatment of Immune Thrombocytopenia: Spanish registry study. *New England Journal of Medicine* [online]. 2021, 2021-09-02, 385(10), 885-895 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa2100596
2. BUSSEL, J., ARNOLD, D. M., GROSSBARD, E., et al. Fostamatinib for the treatment of adult persistent and chronic immune thrombocytopenia: Results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *American Journal of Hematology* [online]. 2018, 93(7), 921-930 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0361-8609. Dostupné z: doi:10.1002/ajh.25125
3. Cleveland Clinic. (2024) Thrombocytopenia: Symptoms, Stages & Treatment. Dostupné na: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/14430-thrombocytopenia>.
4. LIBOR, Č. Imunitní trombocytopenie, diagnostika, klasifikace, diferenciální diagnostika. *Vnitřní lékařství*[online]. 2010, 2010(1) [cit. 2024-04-14]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/tema/imunitni-trombocytopenie/detail/imunitni-trombocytopenie-diagnostika-klasifikace-diferencialni-diagnostika-120281>
5. ČERVINEK, L., et al. Imunitní trombocytopenie (ITP). *TRANSFUZE A HEMATOLOGIE DNES*. 2010, (3), 52 st. - 58 st. ISSN 1213-5763.
6. Encyclopedia.com. Idiopathic Thrombocytopenia Purpura [online]. 2024-02-03 [cit. 2024-03-10]. Dostupné z: <https://www.encyclopedia.com/medicine/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/idiopathic-thrombocytopenia-purpura>.
7. FONS. PŘÍRUČKA LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ [online]. 2022 [cit. 2024-04-10]. Dostupné z: <http://stara.cskb.cz/plv/Produkty/E83CA783-7A8F-43F4-8A27-4690F5E436BB.html>
8. FURLAN, M., ROBLES, R., GALBUSERA, M., et al. *New England Journal of Medicine* [online]. 1998, 1998-11-26, 339(22) [cit. 2024-03-17]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199811263392202

9. GERNSHEIMER, T., JAMES, A. H., STASI, R., et al. How I treat thrombocytopenia in pregnancy: Spanish registry study. *Blood* [online]. 2013, 2013-01-03, 121(1), 38-47 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2012-08-448944
10. GHOSHAL, K., a BHATTACHARYYA, M., Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis. *The Scientific World Journal* [online]. 2014, 1-16 [cit. 2024-03-10]. ISSN 2356-6140. Dostupné z: doi:10.1155/2014/781857
11. GODEAU, B., LESAGE, S., et al., (1993). Treatment of adult chronic autoimmune thrombocytopenic purpura with repeated high-dose intravenous immunoglobulin. *Blood*, 82(5), 1415–1421.
12. GOLEBIEWSKA, Ewelina M. a POOL, Alastair W. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews* [online]. 2015, 29(3), 153-162 [cit. 2024-03-09]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi: 10.1016/j.blre.2014.10.003
13. HAFERLACH, T., BACHER, U., THEML, H., DIEM, H., 2014. Kapesní atlas hematologie. Praha: Grada. 230 s., ISBN 978-80-247-4787-3
14. Healthdirect. Thrombocytopenia [online]. 2024-02-23 [cit. 2024-03-10]. Dostupné z: <https://www.healthdirect.gov.au/thrombocytopenia>.
15. HLUŠÍ, A., Trombocytopenie – úvod [online]. 2023-12-09. Dostupné z: <https://www.trombocytopenie.cz/trombocytopenie-uvod/>.
16. HOACNY. Treatment of Thrombocytopenia [online]. 2024-02-21 [cit. 2024-03-10]. Dostupné z: <https://www.hoacny.com/patient-resources/blood-disorders/what-thrombocytopenia/treatment-thrombocytopenia>.
17. HOLINSTAT, Michael. Normal platelet function. *Cancer and Metastasis Reviews* [online]. 2017, 36(2), 195-198 [cit. 2024-03-09]. ISSN 0167-7659. Dostupné z: doi:10.1007/s10555-017-9677-x
18. CHANG, Jae C. TTP-like syndrome: novel concept and molecular pathogenesis of endotheliopathy-associated vascular microthrombotic disease. *Thrombosis*

- Journal [online]. 2018, 16(1) [cit. 2024-03-17]. ISSN 1477-9560. Dostupné z: doi:10.1186/s12959-018-0174-4
19. KAPPERS-KLUNNE, M. C., & VAN'T VEER, M. B., et al. Cyclosporin A for the treatment of patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura refractory to corticosteroids or splenectomy: Results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *British Journal of Haematology* [online]. 2001, 114(1), 121-125 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0007-1048. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2141.2001.02893.x
 20. KOZÁK, T., 2015. *Imunitní trombocytopenie*. Praha: Maxdorf. 136 s. ISBN 978-80-7345-370-1
 21. KOZÁK, Tomáš, ČERMÁK Jaroslav, ČERNÁ Olga, et al. Recommendations of the Czech Society of Haematology for the diagnosis and treatment of immune thrombocytopenia in adults. *Transfuzie a hematologie dnes* [online]. 2023, 2023-3-15, 29(1) [cit. 2024-03-16]. ISSN 12135763. Dostupné z: doi:10.48095/cctahd202368
 22. LUDVÍKOVÁ, B., 2019. *Trombocytopenie v dětském věku*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. 104 s. ISBN 978-80-244-5477-1
 23. MACHLUS, Kellie R. a ITALIANO Joseph E.. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *Journal of Cell Biology*[online]. 2013, 2013-06-10, 201(6), 785-796 [cit. 2024-03-09]. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.201304054
 24. Mayo Clinic. Thrombocytopenia (low platelet count) - Symptoms and causes [online]. 2024-03-08 [cit. 2024-03-10]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/thrombocytopenia/symptoms-causes/syc-20378293>.
 25. Medical News Today. Pseudothrombocytopenia: Definition, causes, and more [online]. 2024-02-20 [cit. 2024-03-10]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/pseudothrombocytopenia>
 26. MILTIADOUS, O., HOU, M., & BUSSEL, J. B., et al. Identifying and treating refractory ITP: difficulty in diagnosis and role of combination

- treatment. *Blood* [online]. 2020, 2020-02-13, 135(7), 472-490 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.2019003599
27. MONTAGUE, Samantha J., ANDREWS Robert K. GARDINER a Elizabeth E.. Mechanisms of receptor shedding in platelets. *Blood*[online]. 2018, 2018-12-13, 132(24), 2535-2545 [cit. 2024-03-09]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2018-03-742668
28. Národní zdravotnický informační portál. Krev: základní informace [online]. 2024-02-20 [cit. 2024-03-09]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/1505-krev-zakladni-informace>.
29. PALAU, J., SANCHO, E., HERRERA, M., et al. Characteristics and management of primary and other immune thrombocytopenias: Spanish registry study. *Hematology* [online]. 2017, 2017-07-18, 17(5), 1-9 [cit. 2024-03-17]. ISSN 1024-5332. Dostupné z: doi:10.1080/10245332.2017.1311442
30. PENKA, M., PENKA, I., GUMULEC, J., a kolektiv, 2014. Krvácení. Praha: Grada. 336 s. ISBN 978-0-247-0689-4
31. PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., a kolektiv, 2011. Hematologie a transfuzní lékařství I. Praha: grada. 488 s. ISBN 978-80-247-3459-0
32. PROVAN, D., ARNOLD, D. M., BUSSEL, J. B., et al. Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia: Results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *Blood Advances* [online]. 2019, 2019-11-26, 3(22), 3780-3817 [cit. 2024-03-17]. ISSN 2473-9529. Dostupné z: doi:10.1182/bloodadvances.2019000812
33. REINER, A., GERNSHEIMER, T., & SLICHTER, S. J., et al. Pulse cyclophosphamide therapy for refractory autoimmune thrombocytopenic purpura [see comments]: difficulty in diagnosis and role of combination treatment. *Blood*[online]. 1995, 1995-01-15, 85(2), 351-358 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.V85.2.351.351
34. Shamshad Begum Ioni. Platelet structure and function (1).2020, [cit. 2024-03-17] Dostupné z: <https://pt.slideshare.net/shamshadloni/platelet-structure-and-function-1>.

35. SLÍVA, Jiří. Avatrombopag v léčbě trombocytopenií – lékový profil přípravku Doptelet. TRANSFUZE A HEMATOLOGIE DNES [online]. 2023, 2023(4), 267 st. - 270 st. [cit. 2024-04-14]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2023-4-16/avatrombopag-v-lecbe-trombocytopenii-lekovy-profi-l-pripravku-doptelet-136004>
36. SYSMEX. XN SERIES – pokyny pro použití. SYSMEX. Sysmex [online]. 2022 [cit. 2024-04-12]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz>
37. ŠIMKOVÁ, K a MATALOVÁ, P. Immune thrombocytopenia in children. *Pediatric pro praxi* [online]. 2022, 2022-10-11, 23(5), 326-329 [cit. 2024-04-10]. ISSN 12130494. Dostupné z: doi:10.36290/ped.2022.057
38. TSAI, H.M., LIAN, E.C. Antibodies to von Willebrand Factor–Cleaving Protease in Acute Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *New England Journal of Medicine* [online]. 1998, 1998-11-26, 339(22), 1585-1594 [cit. 2024-03-17]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199811263392203
39. VRBENSKY, John R., MOORE, Joyce E., ARNOLD, Donald M., et al. Von Willebrand Factor–Cleaving Protease in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and the Hemolytic–Uremic Syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*[online]. 2019, 17(5), 1578-1584 [cit. 2024-03-17]. ISSN 15387836. Dostupné z: doi:10.1111/jth.14419
40. ZUFFEREY, A., KAPUR, R., SEMPLE J., Pathogenesis and Therapeutic Mechanisms in Immune Thrombocytopenia (ITP). *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2017, 6(2) [cit. 2024-03-10]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm6020016

11 Seznam obrázků a tabulek

11.1 Seznam obrázků

Obrázek 1 - vývojová řada erytrocytů (zdroj vlastní).....	10
Obrázek 2 - vývojová řada granulocytů (zdroj vlastní).....	11
Obrázek 3 - vývojová řada lymfocytů (zdroj vlastní).....	11
Obrázek 4 - vývojová řada monocytů (zdroj vlastní).....	11
Obrázek 5 - vývojová řada trombocytů (zdroj vlastní).....	11
Obrázek 6 - struktura trombocytů (zdroj – Shamshad Begum Ioni, 2020).....	12
Obrázek 7 - žíla s normálním počtem a se sníženým počtem trombocytů (zdroj - Cleveland Clinic, 2024)	15
Obrázek 8 - shluky trombocytů (zdroj vlastní).....	17
Obrázek 9 - destičkový satelitismus (zdroj vlastní).....	17
Obrázek 10 – patofyziologie u ITP (ŠIMKOVÁ, 2022)	19
Obrázek 11 - Analyzátor sysmex XN (zdroj - vlastní).....	37
Obrázek 12 - Hydrodynamická fokusace (zdroj – SYSMEX, 2022)	40
Obrázek 13 - Prutoková kyveta (zdroj – SYSMEX, 2022)	40
Obrázek 14 - scattergram (zdroj – SYSMEX, 2022).....	41
Obrázek 15 – Procentuální rozdělení pacientů s ITP dle typu léčby (zdroj – Vlastní)...	44
Obrázek 16 - hodnoty PLT pacienta číslo 1. (zdroj – vlastní).....	47
Obrázek 17 - hodnoty PLT pacienta číslo 2. (zdroj – vlastní).....	49
Obrázek 18 - hodnoty PLT pacienta číslo 3. (zdroj – vlastní).....	50
Obrázek 19 - hodnoty PLT pacienta číslo 3. (zdroj – vlastní).....	52
Obrázek 20 - Hodnoty PLT u pacienta číslo 5. (zdroj – vlastní).....	53

11.2 Seznam tabulek

Tabulka 1 - Pacienti bez léčby.....	45
Tabulka 2 – Pacienti s léčbou 1. linie.....	46
Tabulka 3 - Pacienti s léčbou 2. linie.....	46

12 Seznam zkratek

ITP – Idiopatická trombocytopenická purpura

APC – Antigen prezentující buňky

TLR – Toll – like (receptor)

IVIG – intravenózní imunoglobulin

TPO – trombopoetin

MK – megakaryocyt

KD – kostní dřev

G-CSF – Granulocyte Colony-Stimulating Factor, růstový hormon stimulující tvorbu a růst bílých krvinek

ATP – adenosine Triphosphate

ADP – Adenosine Diphosphate

5-HT – serotonin

VAMP8 – Vesicle-Associated Membrane Protein

P2Y_x – purinergní receptor

HIT – Heparinem indukovaná trombocytopenie

TTP – Trombotická trombocytopenická purpura

Mg²⁺ - Iont hořčíku

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IgA – imunoglobulin A

WBC – leukocyty

RBC – erytrocyty

PLT – trombocyty

GP – glykoprotein

IVIG – Intravenózně podávané imunoglobuliny

NEU1 – Lysozomální neuraminidáza 1

DANA - 2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminová kyselina

BAFF – B-cell Activating Factor

Tregs – T regulační buňky

Bregs – B regulační buňky

IL – interleukin

Th – pomocné T-lymfocyty

DC – dšentrické buňky

TNF – Tumor Necrosis Factor

INF – interferon

EGF – epidermální růstoví faktor

TGF – Transforming Growth Factor

pDC – plazmocytoïdní dendritické buňky

IDO1 – dioxygenáza 1

CTL – cytotoxické T lymfocyty

LPS – lipopolysacharid

IPF – hodnota nezralých trombocytů

MDS – myelodysplastický syndrom

ANA – antinukleární protilátky

Anti-ENA – anti-extrahované nukleární antigeny

TSH – hormon štítné žlázy

TPO-RA – agonisté receptoru trombopoetinu

PML – progresivní multifokální leukoencefalopatie

SPC – Summary of Product Characteristics

SLE – systémový lupus erythematosus

IČP – identifikační číslo právnické osoby

LIMS – Laboratorní informační a řídicí systém (Laboratory Information Management System)

HCT – hematokrit

DNA – deoxyribonukleová kyselina

RNA – ribonukleová kyselina

LMWH – nízko molekulární heparin