

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

IVANA CIKÁNOVÁ

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ
studijní program: Specializace ve zdravotnictví (B5345)

Ivana Cikánová

Studijní obor: Zdravotní laborant (5345R020)

**MIKROANGIOPATICKÁ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE,
JAK MŮŽE LABORATOŘ PŘÍSPĚT K DIAGNÓZE**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Jitka Šlechtová

Plzeň 2019

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použité literatury.

V Plzni dne 29.3. 2019

vlastnoruční podpis

ABSTRAKT

Příjmení a jméno: Cikánová Ivana

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Mikroangiopatická hemolytická anémie, jak může laboratoř přispět k diagnóze

Vedoucí práce: MUDr. Jitka Šlechtová

Počet stran – číslované: 46

Počet stran – nečíslované: 21

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 27

Klíčová slova: mikroangiopatická hemolytická anémie – intravaskulární hemolýza – schistocyty – trombocytopenie

Souhrn:

Bakalářská práce je rozdělena na dvě hlavní části, část teoretickou a část praktickou. Teoretická část se věnuje popisu jednotlivých onemocnění doprovázených mikroangiopatickou hemolytickou anémií a jejich etiopatogenetickými mechanismy. V teoretické části jsou uvedeny laboratorní metody a změny v nejprůkaznějších laboratorních parametrech přispívající k diagnostice život ohrožujícího stavu. Dále je popsána diferenciální diagnostika jednotlivých onemocnění, lišících se v prvotní příčině vzniku. V praktické části bakalářské práce jsou rozebrány kazuistiky pacientů s onemocněním spadajícím do trombotických mikroangiopatií.

ABSTRACT

Surname and name: Cikánová Ivana

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Microangiopathic hemolytic anemia, the ways laboratory can contribute to diagnosis

Consultant: MUDr. Jitka Šlechtová

Number of pages – numbered: 46

Number of pages – unnumbered: 21

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 27

Keywords: microangiopathic haemolytic anemia – intravascular hemolysis – schistocytes – thrombocytopenia

Summary:

The bachelor thesis is divided into two main parts, the theoretical part and a practical part. The theoretical part deals with the description of individual diseases accompanied by microangiopathic haemolytic anemia and their etiopathogenetic mechanisms. In the theoretical part are presented laboratory methods and changes in the most prominent laboratory parameters contributing to the diagnosis of the life-threatening condition. Differential diagnostics of individual diseases differing in the primary cause of the disease are described. In the practical part of this bachelor thesis, the case studies of patients suffering from thrombotic microangiopathies are analyzed.

PŘEDMLUVA

Hlavním důvodem psaní této práce je osobní zájem o obor hematologie a zájem pokračovat v oboru v budoucí kariéře. Nahlédnutí do méně rozebíraného tématu ve školních lavicích přispěje k dalšímu prohloubení znalostí a zvýšené náklonnosti k oboru hematologie. Lidská zvědavost je velická a má zvědavost poznávat věci dosud nepoznané roste.

Poděkování:

Děkuji paní doktorce MUDr. Jitce Šlechtové za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině za psychickou podporu a neustálou důvěru.

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ.....	12
SEZNAM TABULEK.....	13
SEZNAM ZKRATEK.....	15
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST.....	18
1 MIKROANGIOPATICKÁ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE.....	18
1.1 Etiopatogeneze mikroangiopatické hemolytické anémie.....	18
1.2 Laboratorní diagnostika mikroangiopatické hemolytické anémie	19
1.2.1 Krevní obraz.....	19
1.2.2 Schistocyty v krevním nátěru periferní krve	21
1.2.3 Coombsův test.....	22
1.2.4 Hemokoagulační vyšetření.....	22
1.2.5 Biochemické metody.....	23
1.3 Terapie mikroangiopatické hemolytické anémie	23
2 TROMBOTICKÁ TROMBOCYTOPENICKÁ PURPURA.....	25
2.1 Etiopatogeneze trombotické trombocytopenické purpury.....	25
2.2 ADAMTS13, diferenciální laboratorní diagnostika.....	26
2.2.1 Gen pro ADAMTS13, molekulární vyšetření.....	27
3 HEMOLYTICKO-UREMICKÝ SYNDROM	28
3.1 Hemolyticko – uremický syndrom spojený s průjmovým onemocněním	28
3.2 Hemolyticko – uremický syndrom bez předchozího průjmového nemocnění.....	29
3.2.1 Familiární forma hemolyticko-uremického syndromu, deficit faktoru H ...	30
3.2.1 H faktor, mechanismus vzniku hemolyticko-uremického syndromu	30
3.3 Laboratorní nález	31
4 HELLP syndrom	32
4.1 Preeklampsie	32

4.1.1	Predikce preeklampsie, rizikové faktory	33
4.2	Etiopatogeneze HELLP syndromu spojená s preeklampsí.....	33
4.3	Diagnostická kritéria HELLP syndromu, diferenciální diagnostika	34
5	HEPARINEM INDUKOVANÁ TROMBOCYTOPENIE	36
5.1	Heparinem indukovaná trombocytopenie II. typu	36
5.1.1	Laboratorní diagnostika	37
6	DISEMINOVANÁ INTRAVASKULÁRNÍ KOAGULACE	38
6.1	Etiopatogeneze diseminované intravaskulární koagulace.....	38
6.2	Laboratorní vyšetření diseminované intravaskulární koagulace.....	39
6.2.1	Screeningové laboratorní testy.....	40
6.2.2	Konfirmační laboratorní testy	40
7	SEKUNDÁRNÍ MIKROANGIOPATICKÁ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE	41
	PRAKTICKÁ ČÁST	42
	CÍL PRÁCE	42
	VÝZKUMNÉ OTÁZKY	43
	METODIKA PRÁCE	44
8	KAZUISTIKY.....	45
8.1	Kazuistika č. 1	45
8.2	Kazuistika č. 2.....	47
8.3	Kazuistika č. 3.....	49
8.4	Kazuistika č. 4.....	51
8.5	Kazuistika č. 5.....	53
9	DISKUZE	59
	ZÁVĚR	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	63
	SEZNAM PŘÍLOH	66
	PŘÍLOHY	67

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1	1
Schistocyty	22

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1	1
Hodnoty krevního obrazu pro dospělé (> 15 let)	20
Tabulka č. 2	2
Laboratorní hodnoty KO 21.9. 2016	46
Tabulka č. 3	3
Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 4.9. – 9.9. 2018	48
Tabulka č. 4	4
Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 5.2. – 7.2. 2019 v časovém rozmezí 05:52 – 19:49 hodin	50
Tabulka č. 5	5
Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 8.9 – 24.9. 2018	52
Tabulka č. 6	6
Tabulka č. 6 Laboratorní hodnoty KO 12.10. 2018	53
Tabulka č. 7	7
Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO 17.11. 2018 v časovém rozmezí 07:12 – 19:58 hodin	54
Tabulka č. 8	8
Kontinuální monitorace koagulace 17.11. 2018 v časovém rozmezí 07:12 – 19:58 hodin	55
Tabulka č. 9	9
Laboratorní hodnoty biochemického vyšetření 12.10. 2018	56

Tabulka č. 10	10
Laboratorní hodnoty KO 28.11. 2018	57
Tabulka č. 11	11
Laboratorní hodnoty koagulace 28.11. 2018	58

SEZNAM ZKRATEK

ADAMTS13	Disintegrin a metaloproteináza s domény trombospondinu 1 (A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1-like domains 13)
Anti-T-Tn	protilátky proti Thomsenovu-Friedenrichovu antigenu
ALP	Alkalická fosfatáza
ALT	Alaninaminotransferáza
AST	Aspartátaminotransferáza
cDNA	Komplementární deoxyribonukleová kyselina
CK	Kreatinkináza
CTAG	Počítačová tomografie s angiografickým vyšetřením
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulace
D+HUS	Hemolyticko-uremický syndrom spojený s průjmovým onemocněním (Diarrhoea-associated HUS)
D-HUS	Hemolyticko-uremický syndrom bez předchozího průjmového onemocnění (Diarrhoea-negative HUS)
EBV	Virus Epstein-Barrové
FDP	Fibrin degradační produkty
FM	Fibrinové monomery
FN	Fakultní nemocnice
GAG	Glykosaminoglykany
GGT	Gama-glutamyltransferáza
GP Ib α	Glykoprotein Ib alfa
GP Ib-X-V	Glykoprotein Ib-X-V
Hb	Hemoglobin
HCT	Hematokrit
HELLP	Hemolýza, zvýšené jaterní enzymy, trombocytopenie (Haemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets)
HIT	Heparinem indukovaná trombocytopenie
HIT I.	Heparinem indukovaná trombocytopenie prvního typu
HIT II.	Heparinem indukovaná trombocytopenie druhého typu

HITTS	Heparinem indukovaná trombocytopenie/trombotický syndrom
HUS	Hemolyticko-uremický syndrom
IgA	Imunoglobulin A
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
i.v.	Do žíly (intravenózně)
EDTA	Kyselina ethylendiaminotetraoctová
KO	Krevní obraz
LD	Laktátdehydrogenáza
LMWH	Nízkomolekulární heparin (Low Molecular Weight Heparin)
MAHA	Mikroangiopatická hemolytická anémie
MCH	Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (Mean Corpuscular Hemoglobin)
MCHC	Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)
MCV	Střední objem erytrocytů (Mean Corpuscular Volume)
PAI-1	Inhibitor aktivátoru plasminogenu typu 1
PAPP-A	S těhotenstvím spojený plazmatický specifický protein A (Pregnancy associated plasma protein-A)
PAT	Přímý antoglobulinový Coombsův test
PF4	Destičkový faktor 4
PIGF	Placentární růstový faktor
PLT	Krevní destičky, trombocyty (Platelets)
PP-13	Placentární protein 13
PTMS	Postpartální trombotický mikroangiopatický syndrom
RBC	Červené krvinky, erytrocyty (Red Blood Cells)
RDW	Distribuční křivka erytrocytů (Red Distribution Width)
Rtc	Retikulocyty

sEng	Solubilní endoglin
sFlt-1	Solubilní receptor tyrozinkinázového typu-1
TAFI	Trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy
TEG	Trombelastografie
TF	Tkáňový faktor
TFPI	Inhibitor zevní cesty tkáňového faktoru (Tissue Factor Pathway Inhibitor)
TMA	Trombotická mikroangiopatie
TNF	Nádor nekrotizující faktor (Tumor Necrosis Factor alfa)
T-Tn antigen	Thomsenův-Friedenreichův antigen
TTP	Trombotická trombocytopenická purpura
UFH	Nefrakciovaný heparin (UnFractionated Heparin)
ULM vWF	Neobvykle velké multimery vWF (Ultra Large Multimers vWF)
VEGF	Vaskulární endoteliální růstový faktor (Vaskular Endothelial Growth Factor)
VO	Výzkumná otázka
vWF	von Willebrandův faktor
WBC	Bílé krvinky, leukocyty (White Blood Cells)

ÚVOD

Bakalářská práce s názvem „Mikroangiopatická hemolytická anémie, jak může laboratoř přispět k diagnóze“ je zpracována jako teoretická práce. Zaměřuje se na obecný popis projevů trombotických mikroangiopatií, popisuje příčiny vzniku a laboratorní diagnostiku. Dále se věnuje podrobné charakteristice jednotlivých onemocnění, u kterých je mikroangiopatická hemolytická anémie společným a doprovodným projevem. Popisuje etiopatogenetické mechanismy uvedených chorob a diferenciální diagnostiku, důležitou k odhalení základní příčiny vzniku mikrotrombotizace s konzumpční trombocytopenií a intravaskulární hemolýzou, vedoucí k postupně se prohlubující anémii a kritické hodnotě krevních destiček.

Laboratorní metody, které jsme využili pro diagnostiku závažného, život ohrožujícího stavu jsou uvedeny v teoretické části a změny v jednotlivých parametrech jsou rozebrány při popisu kazuistik v praktické části práce. Za nejprůkaznější laboratorní metodu považujeme krevní obraz, který patří k základním hematologickým laboratorním vyšetřením. Zvýšenou pozornost věnujeme počtu krevních destiček, který u stavů spojených s mikroangiopatickou hemolytickou anémií rapidně klesá. Patrné jsou i známky anémie. Velice vlivnou, byť jednoduchou metodou je krevní nátěr, kde pozorujeme přítomnost schistocytů a jejich kvantifikaci. V hemokoagulačních screeningových testech jsme přílišné změny nedetekovali, až na nějaké výjimky. Přihlíželi jsme i k biochemickým parametrům, souvisejícím s metabolismem erytrocytů.

Mikroangiopatická hemolytická anémie (MAHA) je velice závažný stav, nikoliv často se vyskytující. V současné době není tématem opomíjeným. Na základě automatizace laboratorních činností a neustálého vylepšování techniky není diagnostika příliš složitá. Rozvojem citlivých analyzátorů dochází k včasnému a rychlému rozpoznání patologického stavu spojeného s MAHA. Diferenciální diagnostika zahrnující specifické testy pro jednotlivá onemocnění, spadajících do mikroangiopatií, umožňuje vyjádření definitivní diagnózy. Rozšířením léčebných postupů a možností personalizované medicíny je léčba dostupnější a MAHA není spojována s vysokou úmrtností.

TEORETICKÁ ČÁST

1 MIKROANGIOPATICKÁ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE

Mikroangiopatická hemolytická anémie (MAHA) zahrnuje heterogenní skupinu chorob, které doprovází a často bývá jejich závažnou komplikací. Výskyt není příliš častý, ale ani ne vzácný. MAHA je řazena mezi extrakorpuskulární hemolytické anémie vznikající většinou na neimunitním podkladě. K destrukci erytrocytů dochází přímo v krevním řečišti, v mikrovaskulárním systému. Příčinou intravaskulární hemolýzy je fragmentace erytrocytů vlivem tvorby mikrotrombů. Dochází k poškození cévního endotelu, obnažení subendotelové vrstvy tvořené kolagenem a aktivaci trombocytů vedoucí k tvorbě trombů. Poškození endotelu a aktivace trombocytů je vyvolané základním onemocněním, která budou probrána v samostatných kapitolách (Indrák, 2014; Penka, 2009).

1.1 Etiopatogeneze mikroangiopatické hemolytické anémie

Společným mechanismem všech chorob spadajících do skupiny MAHA je mechanické poškození erytrocytární membrány a uvolnění obsahu erytrocytu, hemoglobinu, volně do krevního oběhu. Vzniká hemoglobinémie, hypohaptoglobinémie. Rozrušení integrity erytrocytu může být zapříčiněno mechanickou překážkou měnící cévní průsvit nebo depozity fibrinu ukládajícími se do místa, kde již endotel v cévní stěně chybí nebo je poškozen. V některých případech přítomnost fibrinových depozit nemusí být hlavní příčinou vzniku mikroangiopatické hemolýzy. K postižení cévní stěny může docházet těžkou hypertenzí či vazokonstrikcí. MAHA může vznikat v doprovodu vaskulitid, při akutní glomerulonefritidě, v přítomnosti shiga toxinu poškozujících cévní endotel nebo při rejekci štěpu. Porušením celistvosti a odštěpením části krvinky vznikají nepravidelné tvary, fragmenty, s výběžky cytoplazmy. Je porušena plasticita erytrocytů. V důsledku dochází ke zvýšenému zániku erytrocytů, a to zejména ve slezině. Dle síly vyvolávajícího podnětu může docházet až k intravaskulární hemolýze s hemoglobinurií. Některé příčiny vyvolávající mikroangiopatie mohou současně aktivovat koagulační systém a směřovat k rozvoji diseminované

intravaskulární koagulace (DIC) s přítomností trombů v mikrocirkulaci, což může vést k vystupňování hemolýzy (Kozák, 2015; Klener, 2011; Penka, 2009).

1.2 Laboratorní diagnostika mikroangiopatické hemolytické anémie

MAHA je doprovodným projevem mnoha onemocnění, podle převažujícího klinického projevu se rozděluje na jednotlivé podjednotky (TTP, HUS, HELLP syndrom, HIT, DIC aj.). Je řazena k hemolytickým anémiím s intravaskulární hemolýzou, přítomností schistocytů v nátěru periferní krve, trombocytopenií, tvorbou mikrotrombů, horečkou, neurologickými projevy a renálním postižením. Základní diagnostika a odhalení počátečního stavu nemoci spočívá v rutinních hematologických i biochemických vyšetřeních. Pro přesnou charakteristiku onemocnění se využívá diferenciální diagnostika, která na základě odlišností určí přesnou diagnózu, nápomocnou k dalšímu léčení nemocného. Diferenciální diagnostické metody jsou uvedeny u jednotlivých typů onemocnění. (Zima, 2013).

1.2.1 Krevní obraz

Krevní obraz (KO) patří mezi základní laboratorní hematologická vyšetření. Stanovuje se na hematologických analyzátoch ze vzorku plné nesrážlivé krve, odebrané do protisrážlivého činidla. Nejčastěji se jako protisrážlivé činidlo používají soli kyseliny ethylendiaminotetraoctové (EDTA). Měří se počet krevních buněk metodou elektrické impedance nebo opticky. Součástí KO je i diferenciální rozpočet bílých krvinek buď automatizovaný, stanovený na tisíc leukocytů, nebo mikroskopický stanovený na sto buněk leukocytární populace. Některé parametry, zejména parametry červených krvinek, získává analyzátor výpočtem ze změřených hodnot. Nezastupitelnou roli má mikroskopické hodnocení krevního nátěru periferní krve zkušenou laborantkou. Získáme informace o morfologii erytrocytů, trombocytů, leukocytů a jejich odchylkách od norem. Hodnotíme přítomnost poikilocytů, z nichž pro diagnostiku MAHA je důležitá identifikace a kvantifikace schistocytů. Důležité parametry, na které se nahlíží při diagnostice MAHA, jsou uvedeny a popsány

pod tabulkou č. 1 Hodnoty krevního obrazu pro dospělé (> 15 let) (Zlatohlávek, 2017; Faber, 2015; Zima, 2013).

Tabulka č. 1 Hodnoty krevního obrazu pro dospělé (> 15 let)

PARAMETR	POHLAVÍ	ROZMEZÍ	JEDNOTKA
RBC (erytrocyty)	ženy	3,80 – 5,20	10 ¹² /l
	muži	4,00 – 5,80	
Hb (hemoglobin)	ženy	120,00 – 160,00	g/l
	muži	135,00 – 175,00	
HCT (hematokrit)	ženy	0,35 – 0,47	1
	muži	0,40 – 0,50	
MCV (střední objem ery.)	ženy, muži	82,00 – 98,00	fl
MCH (střední množství Hb)	ženy, muži	28,00 – 34,00	pg
MCHC (střední koncentrace Hb)	ženy, muži	320,00 – 360,00	g/l
RDW (distribuční křivka ery.)	ženy, muži	10,00 – 15,20	%
Rtc absolutně (retikulocyty)	ženy, muži	0,025 – 0,100	1
WBC (leukocyty)	ženy, muži	4,00 – 10,00	10 ⁹ /l
PLT (trombocyty)	ženy, muži	150,00 – 400,00	10 ⁹ /l

Zdroj: Laboratorní příručka – ÚKBH

Hladina hemoglobinu je u stavů spojených s MAHA snížena pod dolní hranici (jedná se o anémii). Hlavním důvodem je probíhající intravaskulární hemolýza z důvodu mechanického poškození erytrocytů v cévním systému. Hemolýzu lze charakterizovat jako zkrácené přežívání erytrocytů v periferní krvi, a to z příčin týkajících se samotných červených krvinek (porucha membrány, deficit enzymů, porucha struktury hemoglobinu) nebo z extrakorpulárních příčin, do kterých řadíme MAHA. Pokud kompenzační schopnosti kostní dřeně,

kteřé jsou až 6 – 10násobné, nestačí doplňovat ztráty, dochází k rozvoji anémie. S propukající anémií, potažmo anemickým syndrom, jsou spojeny i odchylky v dalších parametrech KO (RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, retikulocyty) (Vydra, 2015; Indrák, 2014).

Retikulocyty jsou u MAHA zvýšené. Jejich zvýšená míra vyplavování z kostní dřeně je ve snaze kompenzovat krevní ztráty a zajistit dostatečné oxysličování tkání. Jsou schopné plnit funkce erytrocytů. Jejich zvýšená hladina v periferní krvi se označuje jako retikulocytární krize a nastává 24 – 48 hodin po krvácení, destrukci erytrocytů (Zima, 2013; Penka, 2009).

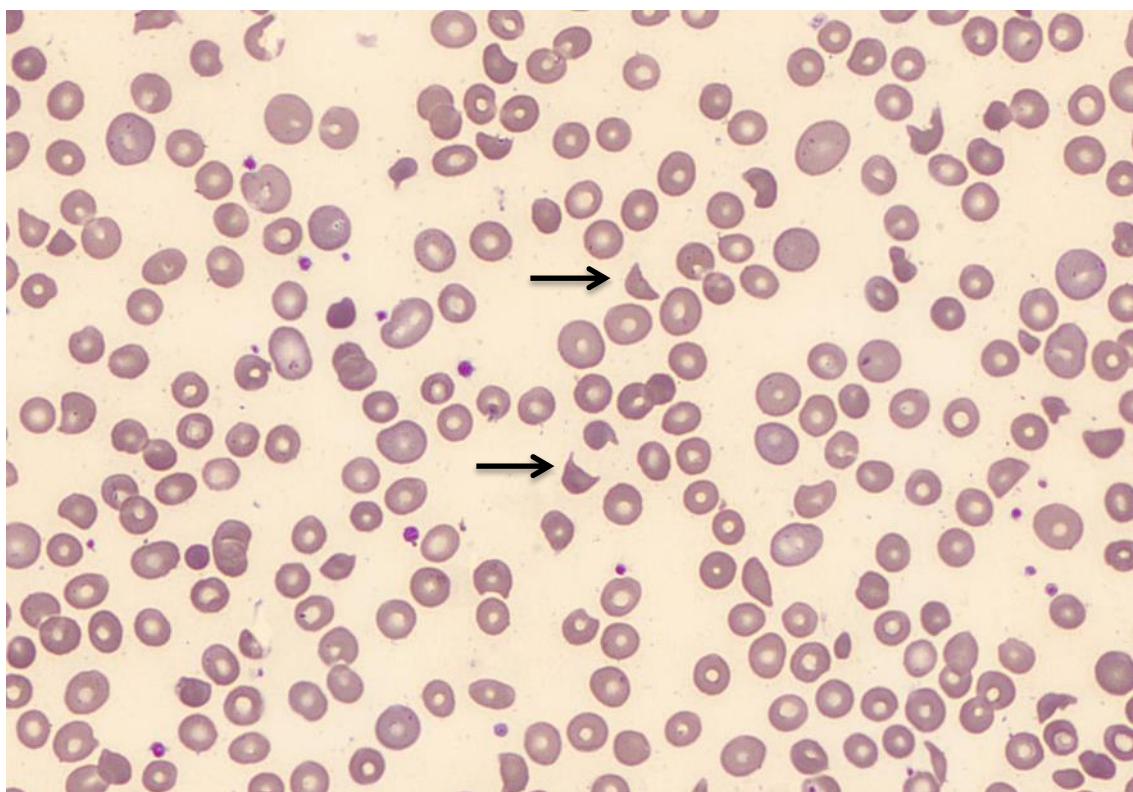
Trombocyty, jejich hladina je u MAHA snížena a označuje se jako trombocytopenie. Je to stav, kdy počet krevních destiček klesne pod dolní hranici referenční meze, pod $150 \cdot 10^9/l$. U onemocnění spojených s trombotickou mikroangiopatií dochází k nadměrnému spotřebování krevních destiček v procesu krevního srážení a vzniku konzumpční trombocytopenie. U velmi vážných stavů nalézáme i nulovou hladinu trombocytů (Vlk, 2015).

Leukocyty, objevuje se leukocytóza s neutrofilii. Zvýšený počet bílých krvinek může souviset s masivním postižením endotelu a současně probíhajícím zánětem (Penka, 2009; Cetkovský, 2004).

1.2.2 Schistocyty v krevním nátěru periferní krve

Schistocyty jsou fragmenty červených krvinek. Fragmentace erytrocytů je způsobena mechanickým poškozením v cévním řečišti, například přítomností fibrinových vláken u trombotických mikroangiopatií (TMA). Může se také vyskytnout u pacientů s umělými srdečními chlopněmi nebo u pacientů užívajících dialýzu. Příčina fragmentace může být dědičného rázu (cytoskeletární abnormality erytrocytů). Přítomnost schistocytů v nátěru periferní krve signifikuje mimořádnou hematologickou situaci, která vyžaduje okamžitou revizi a další vyšetřování na průkaz MAHA. Nález schistocytů není specifický pro trombotické mikroangiopatie (TMA). Vyhodnocení přítomnosti schistocytů se provádí na barveném nátěru periferní krve (May-Grünwald-Giemsa) a jejich kvantifikace se provádí na tisíc erytrocytů (Schapkaitz, 2017).

Obrázek č. 1 Schistocyty



Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň (CellaVision DM 9600)

1.2.3 Coombsův test

Provádí se přímý antiglobulinový test (PAT, přímý Coombsův test). PAT slouží k detekci protilátek, zejména třídy IgG, navázaných na povrch erytrocytární membrány. Pro diagnostiku MAHA je jeho hodnota negativní, protože se nejedná o imunitní příčinu onemocnění (Zima, 2013).

1.2.4 Hemokoagulační vyšetření

Hemokoagulační screeningové metody: aktivovaný parciální trombo-plastinový test (APTT), protrombinový test (PT), trombinový test (TT), D-dimery, fibrinogen, mohou být normální nebo pozměněné, záleží na stupni rozvinutí diseminované intravaskulární koagulace (DIC). Vyšetření plazmatického koagulačního systému se provádí z citrátové plazmy chudé na krevní destičky, za předpokladu dodržení preanalytické fáze laboratorního vyšetření (Vydra, 2015; Zima, 2013; Kazda, 2013).

Výsledky koagulačních screeningových metod (APTT, PT, TT) se uvádějí jako poměr času pacienta ku času referenční plazmy, normální hodnoty jsou

v rozmezí 0,8 – 1,2 l vzato pro osoby neužívající antikoagulační léčbu. Hladina fibrinogenu se za fyziologických podmínek pohybuje mezi 1,8 – 4,5 g/l. D-dimery, jako rozpadové produkty fibrinových vláken, jsou považovány za normální hladinu při 0,00 – 0,50 mg/l FEU (Laboratorní příručka - ÚKBH).

1.2.5 Biochemické metody

Některé parametry potřebné pro diagnostiku hematologických onemocnění jsou řazeny k biochemickým, a též jsou stanovovány na biochemických analyzátoch. Patří sem enzymy související s erytrocyty a jejich metabolismem a některé bílkoviny krevního séra (Zima, 2013).

Haptoglobin je bílkovina, mukoprotein složený z alfa-globulinů, řazen mezi bílkoviny akutní fáze (zánětlivé markery). V současnosti jsou známy tři genotypy haptoglobinu (Hp1-1, Hp 2-1, Hp 2-2). Je syntetizován převážně v játrech. Nachází se volně v plazmě a slouží k vazbě volného hemoglobinu. Uvolněný tetramerní hemoglobin z hemolyzovaných erytrocytů se v plazmě rozpadne na dva dimery, které vytvoří s haptoglobinem komplex, který je následně eliminován v játrech. Tím dojde ke snížení jeho plazmatické koncentrace (0,30 – 2,00 g/l). Pokles hladiny haptoglobinu je spojován s intravaskulární hemolýzou vyskytující se u MAHA (Vlk, 2015; Zima, 2013).

Bilirubin je degradačním produktem hemové složky hemoglobinu. Při uvolnění hemoglobinu z erytrocytů dochází k jeho rozpadu na bílkovinnou a nebílkovinnou složku, která se odbourává. Jedním z meziproductů metabolismu hemoglobinu je bilirubin. Denně se vytvoří až 250 – 350 mg bilirubinu, z čehož 70 % vzniklo právě rozpadem erytrocytů. U MAHA dochází k vzestupu bilirubinu v séru ($\leq 25 \mu\text{mol/l}$) (Zima, 2013; Klener, 2011).

Laktátdehydrogenáza (LD) je enzym, jehož zvýšená hladina je spojována s výskytem hemolytické anémie. Za zvýšenou hladinu LD se považuje hodnota přesahující 4,2 $\mu\text{kat/l}$ (Vlk, 2015).

1.3 Terapie mikroangiopatické hemolytické anémie

Léčba MAHA spočívá v rychlé diagnostice základního onemocnění vyvolávající projevy trombotických mikroangiopatií a v úpravě hemokoagulačních parametrů. Nejúčinnější terapií, zejména pro trombotickou

trombocytopenickou purpuru je využití výměnné plazmaferézy. V některých případech se plazmaferézy kombinují s imunosupresivní léčbou. Podpůrně se u pacientů s diagnostikovanou MAHA podávají krevní transfuze a provádí se hemodialýza při současně probíhajícím renálním selhání (Zlatohlávek, 2017).

2 TROMBOTICKÁ TROMBOCYTOPENICKÁ PURPURA

Trombotická trombocytopenická purpura (TTP) též Morbus Moschcowitz byla poprvé popsána v roce 1925 E. Moschcowitzovou. Jde o multisystémové život ohrožující onemocnění vyznačující se pentádou příznaků: mikroangiopatická hemolytická anémie, konzumpční trombocytopenie, zvýšená tělesná teplota, porucha renálních funkcí a měnlivý neurologický nález zahrnující kvalitativní i kvantitativní poruchy vědomí. Nejčastěji se TTP vyskytuje mezi 20. – 60. rokem života. Dle etiologie dělíme TTP na primární a sekundární. Dále akutní, chronickou, intermitentně relabující a familiární formu (Indrák, 2014).

2.1 Etiopatogeneze trombotické trombocytopenické purpury

Patogenetickým podkladem onemocnění je deficit enzymu, proteázy (depolymerázy) štěpící multimery von Willebrandova faktoru (vWF). vWF je produkován endotelovými buňkami, skladován ve Weibelových-Paladeho tělíscích, a to v monomerním uspořádání. Desítky až stovky monomerů vWF se spojují pomocí disulfidických můstků a tvoří obrovské multimery označované jako ULM vWF (Ultra Large Multimers vWF). ULM vWF vyprodukované endotelem jsou na jednom konci k němu ukotvené, takže vlivem smykové třecí síly krevního proudu dochází k jejich napřimování do lumen cév. Za normálních okolností tvorbě těchto dlouhých vláken vWF brání speciální, játry produkováný enzym, metalloproteináza, označovaná jako ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin-1-like domains 13). ADAMTS13 štěpí multimerní vlákna vWF v místě vazby mezi tyrozinem a methioninem v pozici 842-843. Místo, ve kterém má být ULM vWF štěpen se odhalí právě napřimením vlákna smykovým třením krevního proudu. V případě normální funkce proteázy dochází při sekreci ULM vWF k okamžitému rozštěpení na monomery a malé multimery vWF, které jsou dále unášeny krevním proudem a fyziologicky využity v procesu hemostázy (Penka, 2009).

TTP vzniká v případě nedostatečné aktivity ADAMTS13 proteázy, deficit může být zapříčiněn přítomností inhibitoru, autoprotiátok blokujících správnou

funkci enzymu, též označovaná jako získaná forma TTP. Z 80 % se jedná o protilátky typu IgG, popřípadě kombinace IgG, IgM nebo IgA. Přítomnost genetické abnormality, vedoucí k mutaci genu pro ADAMTS13 a nacházející se na chromozomu 9 (q34), označujeme jako familiární formu TTP. Při poklesu aktivity ADAMTS13 pod 5 % se začínají objevovat vláknité vlákna multimerů vWF a začíná se rozvíjet TTP. Patogenetickým podkladem choroby je obstrukce arteriol a kapilár způsobená tvorbou destičkových trombů s následnou ischemií postižených orgánů. Vznik trombů je podmíněn přítomností napřímených, multimerních vláken vWF, způsobujících zvýšenou adhezi a hyperagregaci destiček bez potřeby jejich předchozí aktivace. V napřímených vláknech vWF se vazebné místo pro trombocytární glykoprotein Ib α velmi ochotně váže na destičkový receptorový komplex glykoprotein Ib-IX-V, který je trvale přítomný na povrchu destiček, a který nepodléhá nutnosti aktivace. Tvoří se destičkové tromby s obsahem vWF a minimem fibrinu a dochází k okluzi mikrovaskulárního řečiště. Mechanická bariéra bránící průtoku krve vede k poškození erytrocytů se vznikem schistocytů a následnou hemolytickou anémií, postupná obturace mikrocirkulace a hypoperfuze vede k ischemizaci. Nejvíce jsou ULM vWF produkovány v arteriálním řečišti nervového systému, zejména v šedé kůře mozkové a mozковém kmeni, což má za následek typický průběh a klinický obraz TTP (Kozák, 2015; Indrák, 2014; Klener, 2011; Penka, 2009).

2.2 ADAMTS13, diferenciatní laboratorní diagnostika

Diagnostické využití stanovení aktivity metalloproteinázy ADAMTS13 je především pro odlišení TTP od ostatních trombotických mikroangiopatií, kdy koncentrace enzymu je výrazně snížena. Nízká hladina ADAMTS13 nemusí vždy znamenat TTP, objevuje se i fyziologicky (věk nad 65 let, gravidita) a u jiných patologických stavů (jaterní cirhóza, urémie, pooperační stavy). Získaná forma TTP je zapříčiněna idiopatickými autoprotiátkami proti ADAMTS13, které blokují normální lytickou funkci proteázy. Rozvinutá forma TTP je charakterizovaná významně sníženou aktivitou metalloproteinázy v séru. Koncentrace ADAMTS13 antigenů může být v normě či lehce zvýšená. Stanovení ADAMTS13 antigenů má význam pro akutní stádium onemocnění, kdy jejich snížená hladina je spojena s vyšší mortalitou, naopak eskalující

koncentrace antigenů v akutní fázi onemocnění poukazuje na klinické zlepšení. Vrozená forma TTP je způsobena heterozygotní nebo homozygotní mutací genu ADAMTS13 (Zima, 2013).

2.2.1 Gen pro ADAMTS13, molekulární vyšetření

Izolací proteolytického enzymu, štěpícího multimerní vlákna vWF v roce 1996 byla odhalena struktura komplementární deoxyribonukleové kyseliny (cDNA) sekvence, na jejímž základě byl nalezen gen pro ADAMTS13. Příslušný gen s 29 exony se nachází na chromozomu 9 (q34). Exprese genu převažuje v játrech. Mutace genu pro ADAMTS13 je spojena s vrozenou formou TTP, projevující se již v raném věku. Dnes je již známo přes 55 druhů mutací (Pospíšilová, 2013).

3 HEMOLYTICKO-UREMICKÝ SYNDROM

Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) byl poprvé popsán v roce 1955, podle autora se též označuje jako Gasserova nemoc. HUS je klinicky podobný TTP a je charakteristický triádou příznaků: mikroangiopatická hemolytická anémie, akutní renální insuficience, konzumpční trombocytopenie. Vyskytuje se převážně v dětském věku, kde představuje nejčastější příčinu akutního selhání ledvin. Dochází k postižení endotelových buněk především v glomerulárních kapilárách, v renálních arteriích, a i cévách dalších orgánů. Dvě kategorie HUS se rozlišují dle přítomnosti hemoragických průjmů. D+HUS s průjmovým onemocněním a D-HUS bez předchozí enteroragie. Společným znakem obou forem HUS je poškození endoteliální výstelky, aktivace imunitního systému, aktivace trombocytů a systémové zánětlivé postižení. HUS se vyskytuje ve třech formách. Endemická forma představuje 90 % HUS u dětí. Vyznačuje se krvavými průjmy po předchozí bakteriální infekci s přítomností verotoxinu (shiga toxin). Toxin způsobuje poškození endotelu hlavně v cévním řečišti ledvin. Sporadická forma HUS je spíše sekundární onemocnění s poporodním výskytem, po některých lécích (ciclosporin A, tacrolimus), po transplantaci kmenových buněk. Klinicky se podobá TTP s multiorgánovým selháním, bez přítomnosti hemoragických průjmů. Familiární forma představuje 5 – 10 % HUS s vysokou mortalitou (Klener, 2011; Penka, 2009, Vydra, 2015).

3.1 Hemolyticko-uremický syndrom spojený s průjmovým onemocněním

D+HUS (diarrhoea-associated HUS) neboli typický HUS provázený hemoragickým průjmovým onemocněním. Jedná se o onemocnění spojené s nákazou enterohemoragickými bakteriemi produkující verotoxin. Mezi bakteriální kmeny produkující verotoxin patří *Escherichia coli*, nejčastěji sérotyp O157:H7, *Shigella dysenteriae*, dále *Clostridium difficile*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter jejuni* a další. Produkovaný toxin se s vysokou afinitou váže na globotriaosylceramidové receptory enterocytů, endotelových buněk, buněčných membrán monocytů a trombocytů, glomerulů a renálních tubulů. Prostřednictvím vazby mezi verotoxinem a receptory napadaných buněk

enterohemoragické bakterie adherují k povrchu buněk střevní sliznice, pronikají do nich a způsobují jejich destrukci. Toxin prochází skrze střevní sliznici do krevního oběhu, kde se váže na receptory erytrocytů, trombocytů, monocytů a endotelových buněk. Dochází k aktivaci imunitního systému s produkcí IL-1, IL-6, TNF-alfa. Produkované cytokiny indukují expresi globotriaosyl-ceramidových receptorů na endotelových buňkách glomerulů, a tím ke zvýšené adhezi Shiga toxinu. Adherovaný toxin na povrchu buněk vede k masivní syntéze dlouhých multimerních vláken vWF (typické i pro TTP). ULM vWF umožňují tvorbu trombů v mikrocirkulaci s následnou obstrukcí cévního řečiště, vznikem schistocytů a intravaskulární hemolýzou. Celkový stav se prohlubuje do těžké mikroangiopatické hemolytické anémie (Indrák, 2014; Klener, 2011; Penka, 2009).

3.2 Hemolyticko-uremický syndrom bez předchozího průjmového onemocnění

D-HUS (diarrhoea-negative HUS) neboli atypický HUS se objevuje bez předchozího průjmového onemocnění. Tvoří zhruba 10 % ze všech případů HUS. Vyvolávající příčinou může být bakteriální nákaza (Shigella, Salmonella, Pneumokokus), představující zhruba 40 % všech případů, virové infekce (enteroviry, EBV) a naopak i protivirová léčba. Bakterie vyvolávající atypickou formu HUS produkují neuraminidázu, enzym štěpící substrát, kyselinu sialovou v buněčných membránách erytrocytů, trombocytů i endotelových buněk - nejčastěji glomerulárních kapilár. Vede k takzvanému neuraminidázovému hemolyticko-uremickému syndromu na podkladě MAHA. Narušením buněčné membrány (erytrocytární, trombocytární) dojde k obnažení Thomsenova-Friedenreichova antigenu (T-Tn antigen) a navázání přirozeně se vyskytujících protilátek anti-T-Tn typu IgM v plazmě. Pokud se takto stane v krevním řečišti, vede expozice antigenu a vazba přirozených protilátek k aglutinaci trombocytů a poškození endotelu. Narušením integrity endotelu se cévní stěna stává adhezivní pro trombocyty, čímž se podněcuje další vazba krevních destiček a prohlubuje tíže onemocnění. Thomsenův-Friedenreichův antigen je také exponován na povrchu maligních buněk, a to již v odkrytém stavu. Není třeba dalšího mechanismu odkrytí a navázání přirozených protilátek anti-T-Tn. Další

vyvolávající příčinou D-HUS jsou maligní nádory (karcinom prostaty, žaludku, slinivky) (Muntau, 2014; Schindler, 2014; Penka, 2009).

3.2.1 Familiární forma hemolyticko-uremického syndromu, deficit faktoru H

Familiární forma hemolyticko-uremického syndromu je řazena k D-HUS, bez předcházejícího průjmového onemocnění. Tvoří zhruba 5 % diagnostikovaných případů HUS. Hlavní příčinou je vrozený deficit komplementu, zejména faktoru H, faktoru I, faktoru B. Vzácnější je získané onemocnění s přítomností autoprotilátek proti faktorům komplementu. Jde o recesivní i dominantní typ dědičnosti. Mutace genu pro faktor H zděděná dominantně má za následek kvalitativní změny antigenu H i C3 složky komplementu. Hladina antigenu faktoru H i C3 složky komplementu v plazmě je v normě ale je změněná jeho funkce. První ataku HUS zaznamenáváme až v dospělosti. U recesivního typu dědičnosti dochází k úbytku hladiny antigenu faktoru H, na 10 – 50 %. Je detekovatelná i nižší hladina C3 složky. První ataka HUS bývá zaznamenána už v dětském věku (Vydra, 2015; Penka, 2009).

3.2.1 H faktor, mechanismus vzniku hemolyticko-uremického syndromu

Jde o plazmatický protein, chránící buňky před účinkem komplementu. Chrání zejména endotelové buňky glomerulů, bazální membránu. Tyto buňky vystavují na svém povrchu polyanionické proteoglykany, na které se faktor H váže a brání proti účinkům komplementu. Navázáním faktoru H na povrchové struktury buněk dojde k odstavení Bb části C3b molekuly. Ta může být snadněji rozštěpena a může podlehnout inaktivaci faktorem I. Právě dysfunkce faktoru H, ať už kvalitativní či kvantitativní, vede k nadměrné aktivaci C3 složky komplementu iniciující poškozování glomerulů prostřednictvím autoprotilátek a imunokomplexů. Masivní postižení endotelu má za následek adhezi trombocytů s následnou agregací, uvolnění tkáňového faktoru z poškozených endotelových buněk a lokální aktivaci koagulace (primární i sekundární hemostázy). V poslední fázi dochází k obstrukci glomerulů destičkovými tromby s obsahem fibrinu (Penka, 2009).

3.3 Laboratorní nález

HUS se laboratorním nálezem velice podobá TTP. Diferenciální diagnostika spočívá v odlišení těchto dvou syndromů, a to na základě hodnoty hladiny enzymu ADAMTS13. U pacientů s HUS je v normě. (Zima, 2013).

4 HELLP syndrom

Haemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count syndrome (HELLP syndrom) byl poprvé pojmenován v roce 1982 Louisem Weinsteinem ale první zmínka o preeklampsii, trombocytopenii a vzestupu jaterních enzymů se objevila již mnoho let před Weinsteinem. Stahnke poprvé v roce 1922 popsal souvislost mezi preeklampsii a trombocytopenií. HELLP syndrom se vyskytuje vzácně, jako samostatná nosologická jednotka nebo v souvislosti s preeklampsii. V těhotenství představuje jednu z nejzávažnějších komplikací. Postihuje 0,2 – 0,4 % těhotných žen, zejména v posledním trimestru, a po porodu a 10 – 20 % žen s těžkou preeklampsii. Téměř 90 % případů se začíná rozvíjet před porodem, nejčastěji mezi 27. – 37. týdnem gravidity. 10 % případů HELLP syndromu se začíná manifestovat před 27. týdnem a 20 % po 37. týdnu. Část případů, kolem 10 % se začíná rozvíjet postpartum, do 24 až 48 hodin a je řazena pod název postpartální trombotický mikroangiopatický syndrom (PTMS). Nejčastěji zasaženou skupinou jsou multipary, častěji bílé rasy, ve věku kolem 25 let. Charakteristickým laboratorním nálezem je trias: hemolýza, elevace jaterních enzymů a trombocytopenie. Prokazatelnost HELLP syndromu je možná až na základě klinických příznaků (Vlk, 2015; Indrák, 2014; Šimetka, 2013; Klener, 2011).

4.1 Preeklampsie

Preeklampsie je multiorgánové onemocnění vznikající výhradně v těhotenství (častěji u prvorodiček), bez zcela jasné etiologie. Je charakterizována jako de novo hypertenze objevující se po 20. týdnu gestace a alespoň jedním z doprovodných jevů: proteinurie nad 300 mg bílkovin za den, postižení ledvin s hladinou kreatininu nad 90 $\mu\text{mol/l}$ nebo oligurie, jaterní selhání s nárůstem transamináz, epigastrická bolest nebo bolest břicha lokalizovaná do pravého horního kvadrantu, neurologické ataky (křeče, těžká cefalea, hyperreflexie, skotom), dále hematologické změny jako hemolýza, známky diseminované intravaskulární koagulace, intrauterinní růstová retardace plodu (Vlk, 2015; Abildgaard, 2013).

4.1.1 Predikce preeklampsie, rizikové faktory

V zájmu rodiček a předmětem mnoha studií je včasné předurčení rizika vzniku preeklampsie, dříve než se objeví klinické symptomy onemocnění. Vedle screeningových testů se přihlíží k rizikovým faktorům, měření hodnoty krevního tlaku a stanovení biochemických markerů cirkulujících v séru těhotných žen. Placentární růstové faktory (PIGF, VEGF) s pro-angiogenním účinkem; solubilní faktor tyrozinkinázového typu (sFlt-1) a solubilní endoglin (sEng) s anti-angiogenním účinkem. Hladiny těchto látek se výrazně liší v séru žen s fyziologicky probíhajícím těhotenstvím a žen s počínající nebo budoucí preeklampsií. Dochází k patologické změně poměru placentárních proteinů (PP-13) a plazmatického proteinu A (PAPP-A). Rizikovými faktory pro rozvoj preeklampsie je zejména její výskyt v rodinné a osobní anamnéze. U prvorodiček je zvýšené riziko výskytu s přenosem do dalšího těhotenství až sedminásobné. Riziko zvyšují i chronická onemocnění zahrnující hypertenzi, obezitu, diabetes mellitus, renální choroby. Dalšími faktory nápomocnými k rozvoji preeklampsie mohou být autoimunitní onemocnění, malnutrice, abnormality plodu spojené s patologickým vývojem placenty (Vlk, 2015).

4.2 Etiopatogeneze HELLP syndromu spojená s preeklampsií

HELLP syndrom je řazen do skupiny mikroangiopatických hemolytických anémií s trombocytopenií. Vzniká na podkladě generalizovaného postižení endotelu, přičemž dochází k aktivaci koagulace se vznikem mikrotrombů a konzumpcí trombocytů. I když přesný mechanismus vzniku HELLP syndromu není zcela objasněn, často se dává do souvislosti s preeklampsií. K rozvoji preeklampsie a HELLP syndromu dochází za předpokladu, že je přítomna placenta. Plod není příčinou rozvoje onemocnění (Vlk, 2015; Indrák, 2014).

Za mechanismus vzniku HELLP syndromu je v dnešní době považována snížená placentární perfuze. Hlavním důvodem hypoperfuze je mělká invaze spirálních arteriol do cytotrofoblastu. Normálně dochází k tvorbě vysokokapacitních a nízkorezistentních cév, u HELLP syndromu je pozorován vznik nízkokapacitních a vysokoodporových cév, které nejsou schopné zajistit dostatečnou perfuzi placentární tkáně vedoucí až k její ischemizaci. Na základě ischemie dochází k uvolňování vazoaktivních faktorů, které podporují další

poškození endotelu. Systémová endoteliální dysfunkce vede ke klinickým projevům preeklampsie a HELLP syndromu. Dochází k postupnému rozvoji hypertenze, proteinurii a koagulopatie. S rozvojem trombotické mikroangiopatie je spjata jaterní poškození s elevací jaterních enzymů. Ukládání fibrinu do sinusů jaterní tkáně vede k hepatální nekróze s následným krvácením do Disseho prostoru. Napínání jaterního pouzdra drobným krvácením je příčinou epigastrické bolesti, popisované v některých případech pacientkami s rozvinutým HELLP syndromem (Sabau, 2016; Šimetka 2013).

4.3 Diagnostická kritéria HELLP syndromu, diferenciální diagnostika

Rozvoj HELLP syndromu bývá obvykle hodně rychlý, proto je důležité nezanedbat subjektivní obtíže těhotných pacientek. Prvními příznaky bývá nevolnost, cefalea, epigastrická bolest, poruchy visu (Šimetka, 2013).

Typickým laboratorním nálezem pro HELLP syndrom, jak už vyplývá z rozluštění názvu, je hemolýza, elevace jaterních enzymů a pokles hodnoty trombocytů. Dle rozvoje jednotlivých faktorů můžeme mluvit o parciálním H (Hemolysis) syndromu, EL (Elevated Liver enzymes) nebo ELLP (Elevated Liver Enzymes, Low Platelets) syndromu. Elevace jaterních enzymů, převážně transamináz (alaninaminotransferázy ALT, aspartátaminotransferázy AST) signifikuje poškození jaterních buněk, specifitější markrem pro postižení hepatálních buněk je ALT. Za patologickou hodnotu se u těhotných žen považuje enzymová aktivita $> 0,67 \mu\text{kat/l}$, a u žen s preeklampií $> 1,17 \mu\text{kat/l}$. Poměr AST ku ALT u rozvinutého HELLP syndromu bývá 2 ku 1 a vyšší. Uvedené laboratorní projevy HELLP syndromu jsou předstupněm rozvoje diseminované intravaskulární koagulace (DIC) a někdy bývá uváděno, že HELLP syndrom je spojen s určitou tíží DIC (Sabau, 2016; Vlk, 2015; Šimetka, 2013).

Popis diagnostických kritérií HELLP syndromu je definován ve dvou klasifikačních systémech (Tennessee a Mississippi). Tíže rozvinutého HELLP syndromu nemusí korelovat s hladinou transamináz ani s hloubkou trombocytopenie. Podle klasifikace Tennessee je důležité pro diagnostiku kompletního HELLP syndromu nutné prokázat následující kritéria (trombocyty $<$

$100 \cdot 10^9/l$; ALT, AST $> 1,17 \mu\text{kat/l}$; LD $> 10 \mu\text{kat/l}$). Klasifikace Mississippi bere za nejprůkaznější sérovou hladinu LD a počet trombocytů. Mississippi dělí HELLP syndrom do tří skupin podle počtu trombocytů, kdy první třída je hladina trombocytů nižší než $50 \cdot 10^9/l$, druhá třída trombocyty v rozmezí $50 - 100 \cdot 10^9/l$ a třetí třída s počtem trombocytů vyšší než $100 \cdot 10^9/l$. První třída je považována za nejzávažnější, v ohrožení je matka i plod. Pacientky spadající do třetí třídy mají vysokou pravděpodobnost rozvoje HELLP syndromu pouze v mírné formě (Vlk, 2015; Šimetka, 2013).

5 HEPARINEM INDUKOVANÁ TROMBOCYTOPENIE

Heparinem indukovaná trombocytopenie neboli (HIT) je vzácně se vyskytující, život ohrožující komplikace terapie heparinem. Jedná se o imunitně podmíněnou trombocytopenii s tvorbou autoprotilátek proti komplexu destičkového faktoru 4 (PF4) s heparinem či jiným glykosaminoglykanem (GAG). HIT se vyskytuje ve dvou formách, HIT I. typu a HIT II. typu. V následujících kapitolách bude podrobně probrána HIT II. typu, protože HIT I. typu je klinicky méně významná, je způsobena přímým proagregačním účinkem heparinu (Malý, 2010; Penka, 2009).

5.1 Heparinem indukovaná trombocytopenie II. typu

Heparinem indukovaná trombocytopenie II. typu se někdy označuje jako heparinem indukovaná trombocytopenie/trombotický syndrom (HITTS). Jedná se o život ohrožující syndrom projevující se trombocytopenií a trombotickými komplikacemi vzniklými v souvislosti s léčbou heparinem. Častější výskyt HIT je spojován s indikací nefrakcionovaného heparinu (UFH), 2 – 3 %. Při podání nízkomolekulárního heparinu (LMWH) se HIT objevuje u méně než 1 % pacientů. Propuknutí nemoci je závislé i na terapeutické dávce, délce terapie heparinem a celkovém zdravotním stavu pacienta. 20 % pacientů s diagnózou HIT je ohroženo rozvojem trombózy. Etiopatogenetickým mechanismem je tvorba protilátek IgG proti komplexu PF4 s heparinem. PF4 je uložen v alfa-granulích trombocytů, ze kterých se po jejich aktivaci uvolňuje, je charakterizován vysokou afinitou k heparinu, heparansulfátu, dermatansulfátu a v menší míře k chondroitinsulfátu, který se nachází na povrchu trombocytů. Na základě schopnosti PF4 vázat jednotlivé povrchové glykosaminoglykany různou silou, jsou hepariny schopné odbourat z povrchu trombocytů PF4 a zablokovat tak další aktivaci vytvořením komplexu PF4/GAG. Při terapii heparinem, kdy je dosaženo optimálního poměru heparinu a PF4 dochází k tvorbě imunitních komplexů. Molekuly heparinu ve vazbě s PF4 umožní konformační změny destičkového faktoru 4 spojené s tvorbou epitopu zodpovědného za antigenní stimulaci, vedoucí k tvorbě protilátek. Produkty B lymfocytů, nejčastěji třídy IgG, se svými Fab zakončeními vážou na nově vytvořené epitopy ultravelkých komplexů heparin/PF4. Další vazba je

zprostředkovaná mezi Fc konci protilátek a destičkovým receptorem $Fc\gamma RIIa$. Vazbou mezi komplexy heparin/PF4 a destičkovými receptory $Fc\gamma RIIa$ dochází k další aktivaci a agregaci trombocytů. Vazbou komplexu na endotelové buňky se začne uvolňovat tkáňový faktor, který vyvolá trombotický stav vedoucí ke genezi trombinu. Rozvíjí se konzumpční trombocytopenie s následným přechodem do hyperkoagulačně-protrombotického stavu, diseminované intravaskulární koagulace. Pro předcházení prohlubování dalších komplikací je důležité vysazení terapie heparinem a zahájení antikoagulační léčby za současného podávání antitrombolytik neheparinového typu (Kozák, 2015; Gumulec, 2012; Klener, 2011; Penka, 2009).

5.1.1 Laboratorní diagnostika

Hlavním kritériem rozpoznání HIT je hladina trombocytů v periferní krvi před zahájením léčby heparinem a během nebo na konci heparinizace. Hladina trombocytů před zahájením léčby je většinou v normě. Postupně mezi 5. – 20. dnem po podání heparinu se začíná objevovat trombocytopenie. Tíže trombocytopenie se pohybuje mezi hodnotami $20 - 150 \cdot 10^9/l$. U některých nemocných nemusí pokles trombocytů, o 30 – 50 % z původní hodnoty, znamenat celkový pokles trombocytů pod dolní hranici normy (pod $150 \cdot 10^9/l$), vyskytující se v periferní krvi. Pacienti laboratorně nevykazují trombocytopenii, a přes to jsou ohroženi trombotickými excesy. Pro diagnostiku HIT není rozhodný absolutní počet trombocytů v periférii ale pokles počtu trombocytů z původní hodnoty (Klener, 2011; Malý, 2010).

Dalším diagnostickou metodou pro rozpoznání a určení HIT je stanovení protilátek namířených proti komplexu heparin/PF4. Mezi testy používané pro detekci protilátek patří v současné době:

STicExpert HIT – slouží ke kvalitativní detekci protilátek. Test je založený na rychlém, imunologickém principu stanovení IgG protilátek namířených proti komplexu heparin/PF4 (Gumulec, 2012).

6 DISEMINOVANÁ INTRAVASKULÁRNÍ KOAGULACE

Syndrom diseminovaná intravaskulární koagulace, konzumpční koagulopatie či trombohemoragický fenomén (DIC) představuje získané onemocnění hemostatické rovnováhy, koagulační dysbalanci. Dochází k intravaskulární aktivaci krevního srážení a tvorbě fibrinu s trombotickými okluzemi převážně v mikrocirkulaci. Nejprve dochází k hyperkoagulaci s konzumpcí koagulačních faktorů a inhibitorů plazmatického koagulačního systému, krevních destiček a erytrocytů. Konzumpce může být lokalizována na určitý orgán (jaterní cirhóza, rozsáhlá hemangióza aj.) nebo systémová, vyvíjející se do syndromu DIC. Masivně vystupňovaná koagulační aktivita vede k vyčerpání koagulačních faktorů a následné hypokoagulaci, rozvoji krvácivých projevů a orgánové ischemizaci. DIC lze z teoretického hlediska rozdělit na akutní a chronickou formu. Často nelze určit, zda se pacient nachází v akutním či chronickém stadiu nemoci, může být kdekoliv mezi nimi (Indrák, 2014; Penka, 2014; Klener, 2011; Cetkovský, 2004).

6.1 Etiopatogeneze diseminované intravaskulární koagulace

Syndrom diseminované intravaskulární koagulace netvoří samostatnou nosologickou jednotku, ale vzniká sekundárně, jako následek primárně probíhajícího onemocnění, na které je třeba brát ohled při léčbě. Rozvoj DIC je spojen se stavu, jako je sepse, trauma, nádory, porodnických komplikací (embolizace plodovou vodou, abrupce placenty), těžké toxické a imunologické reakce. Hlavním mechanismem vzniku syndromu je systémové poškození endoteliální cévní vrstvy s masivní expresí tkáňového faktoru (TF). Vzniká dysbalance mezi prokoagulační aktivitou trombinu a fibrinolytickou aktivitou plazminu. Vzniká nadměrné množství trombinu, které vede k nadměrné aktivaci fibrinogenu na fibrin, potlačení fyziologických antikoagulačních mechanismů (antitrombin, protein C, protein S, inhibitor zevní cesty tkáňového faktoru TFPI) koagulačních faktorů a inhibici fibrinolýzy. Masa fibrinu způsobuje tvorbu mikrotrombů v mikrocirkulaci s následnou ischemizací zasažených orgánů. Postupující nekontrolovatelná koagulace vede ke konzumpci

hemokoagulačních složek a následnému krvácení. Fibrinolýza bývá u některých případů utlumena, kdy hlavní roly v hypofibrinolýze hraje zvýšená hladina inhibitoru aktivátoru plazminogenu typu I. (PAI-1). Vystupňovaná fibrinolýza, hyperfibrinolýza vede k většímu riziku krvácení. U hyperfibrinolýzy nacházíme sníženou hladinu PAI-1 a sníženou hladinu trombinem aktivovaného inhibitoru fibrinolýzy (TAFI). Na rozvoji DIC se účastní i celá řada cytokinů, interleukinů a interferonů. Proces vzniku je rozdělen do tří hlavních částí: 1. iniciace (uvolnění TF a geneze trombinu), 2. amplifikace (aktivace fibrinogenu za vzniku fibrinu, snížení aktivity přirozených inhibičních mechanismů), 3. propagace (hypofibrinolýza) (Indrák, 2014; Kazda, 2012; Klener, 2011; Penka, 2009).

Akutní forma DIC je charakterizovaná vystupňovanou trombinovou aktivitou. Je způsobena konzumpcí trombocytů, trombin senzitivních koagulačních faktorů a masivní produkcí TF s následným projevem krvácení. Vznikem trombů v cirkulaci dochází k hypoperfuzi a ischemii orgánů, která může vést až k infarktu a následné nekróze. Nejčastěji jsou zasaženy plíce, ledviny, kůže. Při nedostatečné terapii může dojít k šokovému stavu a úmrtí (Kazda, 2012; Klener, 2011).

Chronická forma DIC je kompenzovaná forma s dlouhodobými klinickými nebo laboratorními projevy. Klinicky se projevuje častěji tromboembolickými projevy (venózní a arteriální trombózy, infarkty). Ojedinelé projevy slabého krvácení nejčastěji kožního či slizničního rázu. Výskyt chronické formy DIC je spojován s maligním onemocněním (adenokarcinomy produkující mucin), syndromem mrtvého plodu a jaterními chorobami (Kazda, 2012; Klener, 2011).

6.2 Laboratorní vyšetření diseminované intravaskulární koagulace

Ideální laboratorní test, parametr pro potvrzení či vyloučení diagnózy DIC neexistuje. Z klinického i laboratorního hlediska je DIC velice variabilním syndromem, proto je nutné hodnotit osobní anamnézu, klinický stav pacienta a celkový panel laboratorních parametrů. Vše závisí na stupni rozvoje DIC, v počáteční fázi je KO i hemokoagulační screening v normě. Pro přehlednost

dělíme laboratorní testy na screeningové a konfirmační (Indrák, 2014; Kazda, 2012; Klener, 2011; Malý, 2010).

6.2.1 Screeningové laboratorní testy

Mezi běžně používané testy pro diagnostiku DIC patří krevní obraz, kde se soustředíme na hodnotu trombocytů a erytrocytů v kontextu celkového zhodnocení KO. V krevním nátěru sledujeme přítomnost schistocytů, popřípadě jejich kvantifikaci. V počáteční fázi rozvoje DIC bývají hodnoty v normě, v pozdní fázi dochází k trombocytopenii a poklesu erytrocytů, na základě jejich neméně důležité role v procesu krevního srážení. Mezi hemokoagulační screeningové metody používané k diagnostice DIC řadíme APTT, PT, TT a hladinu fibrinogenu, u kterých s rozvojem onemocnění dochází k prodlužování jejich časů a snižování koncentrace fibrinogenu (Indrák, 2014; Zima, 2013; Kazda, 2012; Klener, 2011).

6.2.2 Konfirmační laboratorní testy

Konfirmační, potvrzovací testy jsou charakterizovány jako vysoce senzitivní a specifické pro diagnostiku. Mezi konfirmační testy DIC řadíme fibrin degradační produkty (FDP), D-dimery, fibrinové monomery (FM), vyšetření přirozených inhibičních mechanismů plazmatických koagulačních faktorů, fibrinolýza. U syndromu DIC nacházíme zvýšenou přítomnost D-dimerů, monomerů i degradačních produktů fibrinu. Pokles hladiny antitrombinu a snížená koncentrace proteinu C, proteinu S prohlubuje hyperkoagulační stav. Stav fibrinolytického systému posuzujeme trombelastografií (TEG) (Indrák, 2014; Kazda, 2012; Klener, 2011).

Trombelastografie (TEG) je laboratorní metoda využívaná ke zhodnocení hyperkoagulačních stavů, tak stavů hypokoagulačních. Vyšetření lze provádět na nemocných pacientech i během (po) mimotělního oběhu. Záznam z přístroje zohledňuje stav koagulační aktivity i fibrinolytického systému. Výsledným obrazem je TEG křivka. Metoda zachycuje dynamiku procesu krevního srážení a fibrinolýzy, odráží funkční stav hemokoagulace. Významně se podílí na diagnostice příčin krvácení. Výhodou TEG je především rychlost stanovení (Kazda, 2012).

7 SEKUNDÁRNÍ MIKROANGIOPATICKÁ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE

Sekundární mikroangiopatická hemolytická anémie provázejí maligní nádorová onemocnění, dále cévní malformace, vaskulitidy. Souvislost mezi kancerogenezí a vznikem MAHA není stále objasněna. V dnešní době se přihlíží k více možnostem vzniku mikrotrombotizace spojené s nádorovým bujením. Jednou z možností jsou produkty maligních buněk spouštějící nežádoucí agregaci trombocytů, vedoucí k poškození endotelu, vzniku destičkových trombů a mechanické fragmentaci erytrocytů s nálezem schistocytů v periférii. Další možnou vyvolávající příčinou tvorby mikrotrombů mohou být imunokomplexy s obsahem embolů maligních buněk či přímá destrukce erytrocytů v nově vzniklém krevním řečišti tumoru. Laboratorně se nález sekundární MAHA podobá TTP, a proto se u pacientů s tumorem vyšetřují změny v produkci a odbourávání vWF. Klinicky se pacienti jeví anemicky s přítomností ikteru, časté jsou krvácivé projevy (petechie, hematomy), krvácení do zažívacího traktu a život ohrožující intrakraniální krvácení. Hemoragie se objevuje u pacientů s trombocytopenií a současnou koagulopatií. Další symptomy jsou spojené s tíží onkologického onemocnění, které v mnohých případech ztěžuje diferenciální diagnostiku MAHA (ikterus nemusí být příčinou hemolýzy ale obstrukce žlučových cest tumorem, anémie může mít příčinu v chronickém krvácení z tumoru) (Morton, 2016; Indrák, 2014; Penka, 2014).

PRAKTICKÁ ČÁST

CÍL PRÁCE

Hlavním cílem bakalářské práce je charakterizovat laboratorní vyšetření a odchylky v laboratorních hodnotách, které napomáhají k rychlé diagnostice závažného stavu jako je MAHA.

VÝZKUMNÉ OTÁZKY

VO1: Jakými laboratorními metodami, nyní využívanými, lze diagnostikovat MAHA?

VO2: Jaké laboratorní parametry a jejich odchylky jsou nejprůkaznější pro diagnostiku MAHA?

METODIKA PRÁCE

Praktická část bakalářské práce je pojata formou kvalitativního výzkumu. Hlavním důvodem kvalitativní analýzy je ojedinělý výskyt onemocnění. Nepříliš mnoho pacientů trpí trombotickou mikroangiopatií, tudíž statistické vyhodnocení by nemělo přílišný význam. Práce se zaměřuje na teoretické poznatky o chorobách a laboratorní metody, které jsou rozhodující pro včasnou diagnostiku závažného stavu. Včasná diagnostika znamená včasné nasazenou správnou léčbu a velikou šanci na podchycení choroby a její залéčení. V některých případech rychlá diagnostika a včasné nasazená léčba znamená záchranu života.

8 KAZUISTIKY

8.1 Kazuistika č. 1

Muž, 24 let

Popis kazuistiky:

24letý muž byl přijat na interní kliniku pro těžkou trombocytopenii a normocytární normochromní anémii se známkami hemolýzy a mírnou anizocytózou. K vyloučení falešně nízké hladiny trombocytů byl KO odebrán do ThromboExactu, došlo k vyloučení pseudotrombocytopenie, bez nálezu shluků trombocytů v krevním nátěru. Klinicky se objevovaly krvácivé projevy v podobě podkožních výronů na pažích (ekchymóz), souvisejících s trombocytopenií. Přechodná bolest hlavy a zažívací obtíže. Bez známek orgánové disfunkce.

Léčebný postup:

První den příjmu zahájeny denní plazmaferézy (ještě před potvrzenou diagnózou TTP na základě vyšetření aktivity ADAMTS13), a systémová kortikosteroidní léčba (Prednison 80 mg/den). Léčba plazmaferézami vedla k rychlé normalizaci trombocytů, po dvou dnech při hodnotě destiček $170 \cdot 10^9/l$ indikováno ukončení plazmaferézy. Vymizení markrů hemolýzy.

Během několika dnů došlo k relapsu trombocytopenie vedoucí k opětovnému zahájení plazmaferézy se současným podáváním vysokých dávek kortikosteroidů. Známky hemolýzy nedetekovány. Vysoký titr protilátek proti ADAMTS13 vedl k zahájení imunosupresivní léčby (rituximab, 4 dávky/1krát týden). Nastal další pokles destiček, indikace k navýšení výměnných objemů plazmy (i 2krát/den). Pacient bez známek zlepšení, proto zahájeny denní imunoabsorpce ukončené výměnnou plazmaferézou. Při vzestupu trombocytů na hodnotu $60 - 70 \cdot 10^9/l$ podáván 1 l čerstvé mražené plazmy (náhrada plazmaferézy). Nepodařilo se dosáhnout normální hodnoty trombocytů.

Laboratorní nález:

Krevní obraz: známky hemolýzy (hemolytická anémie), přítomnost normoblastů

Tabulka č. 2 Laboratorní hodnoty KO 21.9. 2016

DEN		21.9. 2016
PARAMETR	HODNOTA	JEDNOTKA
RBC	2,98	10 ¹² /l
Hb	96,00	g/l
HCT	0,267	l
MCV	90,00	fl
MCH	32,30	pg
MCHC	361,00	g/l
RDW	15,30	%
Rtc relativně	0,170	l
Rtc absolutně	0,506	10 ¹² /l
PLT	8,00	10 ⁹ /l
PLT(ThromboExact)	15,00	10 ⁹ /l
WBC	5,00	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Pízeň

Mikroskopický nález: neutropenie, lymfocyty různých velikostí s dysplastickými změnami na jádře, polovina zastoupena LGL; mladší formy monocytů, makrotrombocyty (až obří velikosti), bez přítomnosti shluků trombocytů; schistocyty 106/1000

Hemokoagulace: kvantitativně D-dimery zvýšené, ostatní provedené hemokoagulační metody (APTT, APTT-R, PT, PT-R, INR, TT, TT-R, fibrinogen) vyšly v normě

Biochemie: patologické hodnoty nalezeny v parametrech: bilirubin **35** μmol/l; LD **12,78** μkat/l; haptoglobin < **0,25** g/l; ionizovaný vápník **0,51** mmol/l; feritin **947** μg/l (železo, transferin a saturace transferinu v normě); troponin T **147 | 139** ng/l

Další provedené metody (ALT, AST, gamaglutamyltransferáza GGT, alkalická fosfatáza ALP, kreatinkináza CK, hladina močoviny; kyseliny močové, kreatininu; celkové bílkoviny; albuminu; C-reaktivní protein; myoglobin; odhad glomerulární filtrace vyšly v rozmezí fyziologických hodnot.

Diferenciální diagnostika: vyšetření ADAMTS13 s neměřitelnou aktivitou, s přítomností vysokého titru protilátek proti enzymu

Závěr:

Na základě laboratorních vyšetření byla prokázána získaná forma trombotické trombocytopenické purpury s přítomností inhibitoru ADAMTS13. I přes intenzivní léčbu se nepodařilo dosáhnout normálních hodnot trombocytů. Celkový, velmi vážný stav pacienta zřejmě vedl k bolestem obou kyčelních kloubů, rozvíjejících se zhruba po roce první ataky TTP. Dle magnetické rezonance a rentgenového vyšetření došlo k rozpadu hlavic kyčelních kloubů. Pacient byl předán do péče pražské ortopedické kliniky se specializací na operace pacientů s krvácivými onemocněními.

8.2 Kazuistika č. 2

Žena, 16 let

Anamnéza:

V novorozeneckém období izoimunní trombocytopenie (verifikováno jako izoimunní trombocytopenie s vysokým titrem maternálních protilátek proti trombocytům otce), v dalším období hodnoty trombocytů v normě. Ve třech letech vyšetřována pro teploty a patologický nález v moči. V KO zjištěna trombocytopenie s hraničními hodnotami pro anémii. Hodnota leukocytů v normě. Stav byl uzavřen jako intersticiální nefritida a suspektní incipientní HUS. Dívka byla přeléčena antibiotiky. Hodnota trombocytů se spontánně upravila. Pro hraniční anémii (sníženou hladinu hemoglobinu) indikována substituce železem v tabletách.

Popis kazuistiky:

S časovým odstupem se nárazově objevili ataky bolestí břicha doprovázené zvracením a teplotami. Stanovení krevního obrazu odhalilo opětovnou izolovanou trombocytopenii. Zánětlivé parametry v nízkých hladinách, renální funkce v normě. Pouze erytrocyturie v močovém sedimentu. Zvažována TTP i možnost TTP/HUS. Zvažován i Evansův syndrom (imunitní anémie spojená s trombocytopenií). Diferenciální diagnostika vyšetření metalloproteinázy ADAMTS13 prokázala extrémně sníženou hodnotu aktivity ADAMTS13. Titr protilátek negativní. Pro nemožnost plazmaferézy u dítěte byla pacientka k dalšímu léčení přeložena do FN Motol. Ve FN Plzeň na dětské klinice byla dívka ponechána v dispenzární péči. Při dalším relapsu onemocnění byla podávána čerstvá deleukotizovaná plazma. Během několika dnů došlo vždy k normalizaci trombocytů (dle KO).

Laboratorní nález:

Krevní obraz:

Tabulka č. 3 Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 4.9. – 9.9. 2018

DNY	4.9.	5.9.	6.9.	7.9.	8.9.	9.9.	
PARAMETR	HODNOTY						JEDNOTKA
RBC	4,24	3,81	3,82	3,97	4,00	4,28	10 ¹² /l
Hb	125,00	112,00	116,00	117,00	118,00	125,00	g/l
HCT	0,342	0,311	0,326	0,323	0,324	0,356	l
MCV	81,00	82,00	85,00	81,00	81,00	83,00	fl
MCH	29,50	29,40	30,40	29,50	29,50	29,20	pg
MCHC	365,00	360,00	356,00	362,00	364,00	351,00	g/l
RDW	12,80	12,70	12,60	12,30	12,00	12,80	%
PLT	16,00	21,00	38,00	82,00	131,00	288,00	10 ⁹ /l
WBC	6,36	5,24	3,80	4,44	5,30	7,40	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Mikroskopický nález: neutropenie; přítomnost makrotrombocytů bez přítomnosti shluků trombocytů

Hemokoagulace: nevyšetřována

Biochemie: bez známek patologie v provedeném vyšetření jaterních enzymů (ALT, AST)

Diferenciální diagnostika: vyšetření ADAMTS13 s extrémně sníženou aktivitou, bez přítomnosti protilátek proti enzymu

Závěr:

Nález byl vyhodnocen jako vrozená forma TTP.

8.3 Kazuistika č. 3

Žena, 78 let

Anamnéza:

78letá obézní pacientka s hypertenzí, aortální stenózou, revmatoidní artritidou. Prodělala operaci aortální chlopně, dvakrát revidována pro krvácení. Operace s mimotělním oběhem, podáván UFH, později preventivní dávky LMWH. Propuštěna do domácí péče s protidestičkovou léčbou (Godasal 100mg/den).

Popis kazuistiky:

Pacienta v domácí péči po operaci aortální chlopně s mimotělním oběhem, podávána protidestičková léčba. S časovým odstupem kontrola u lékaře, celkový stav pacientky zhoršen. Dušnost, na výpočetní tomografii s angiografií (CTAG) prokázána oboustranná plicní embolie. Zahájena léčba UFH intravenózně (i.v.), během 2 – 3 dnů skokový pokles trombocytů (ze $154 \cdot 10^9/l$ na hodnotu $16 \cdot 10^9/l$). Provedeno vyšetření STicExpert HIT s pozitivním výsledkem. Okamžité vysazení heparinu a zahájení léčby fondaparinuxem (Arixtra). Druhý den po vysazení UFH vzestup trombocytů na $38 \cdot 10^9/l$ s postupným progresem, až na hodnotu $131 \cdot 10^9/l$.

Laboratorní nález:

Krevní obraz:

Tabulka č. 4 Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 5.2. – 7.2. 2019 v časovém rozmezí 05:52 – 19:49 hodin

DNY	5.2. 05:52 – 7.2. 19:49					
PARAMETR	HODNOTY					JEDNOTKA
RBC	4,30	4,35	3,58	3,65	3,74	10 ¹² /l
Hb	135,00	135,00	110,00	111,00	114,00	g/l
HCT	0,404	0,404	0,329	0,333	0,343	l
MCV	94,00	93,00	92,00	91,00	92,00	fl
MCH	31,50	31,00	30,80	30,50	30,60	pg
MCHC	335,00	334,00	335,00	334,00	333,00	g/l
RDW	17,80	17,60	18,10	17,50	17,30	%
PLT	85,00	100,00	22,00	16,00	18,00	10 ⁹ /l
WBC	9,70	11,10	8,80	9,10	8,10	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Mikroskopický nález: nález neutrofilie, lymfocytózy; makrotrombocyty s přítomností anizocytózy trombocytů

Hemokoagulace: nevyšetřována

Biochemie: zvýšené jaterní enzymy (ALT, AST), známky hemolýzy neprokázány

Diferenciální diagnostika: STicExpert HIT pozitivní

Závěr:

Po vysazení heparinizace UFH i.v. se hodnoty trombocytů rychle srovnaly (131 · 10⁹/l). Současná pozitivita vyšetření STicExpert HIT potvrzuje diagnózu HIT II. typu po UFH.

8.4 Kazuistika č. 4

Žena, 79 let

Anamnéza:

79ti letá žena trpící paroxysmální fibrilací síní, s trvale zavedeným kardiostimulátorem. Sekundární diastolická dysfunkce levé komory spjatá se středně významnou plicní hypertenzí. Léčena protidestičkovou léčbou (Anopyrin).

Popis kazuistiky:

Hospitalizace pro totální endoprotézu levého kolenního kloubu. Jeden týden před operací vysazena protidestičková léčba a zahájena heparinizace LMWH (Fraxiparine Forte 0,8 ml s.c. 1x denně). Předoperační vyšetření ukázalo významně zvýšené anti-Xa (1,5 kIU/l), proto vysazení LMWH večer před operací a v den operace podána dávka 0,4 ml s.c.. Pooperační den opět 0,4 ml s.c. 1x denně LMWH. Dva dny po operaci navýšení na 0,6 ml s.c. 1x denně. Kontrolní anti-Xa v očekávané hodnotě (0,37 kIU/l).

První pooperační den patrná mírná trombocytopenie ($133 - 105 \cdot 10^9/l$). Během pěti dnů výrazný pokles trombocytů, až na hodnotu ($46 \cdot 10^9/l$). Subjektivní vnímání paroxysmální fibrilace síní, provedena kontrolní elektrokardiografie s přítomností fibrilace síní s krátkými úseky stimulovaného rytmu. Neprodleně doplněn STicExpert HIT s pozitivním výsledkem. Okamžité vysazení LMWH a zahájení denních dávek fondaparinuxu (Arixtra, 2,5 mg s.c.). Šestý pooperační den došlo k mírnému zvýšení trombocytů, ale opětovné fibrilaci síní s přítomností intermitentní dušnosti, proto dlouhodobá terapie Rytmonormem nahrazena Digoxinem. Celkové zlepšení stavu pacientky umožnilo převedení na Warfarin. Dvanáctý pooperační den přeložena na rehabilitační oddělení s fyziologickým počtem trombocytů.

Laboratorní nález:

Krevní obraz:

Tabulka č. 5 Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO ve dnech od 8.9 – 24.9. 2018

DNY	8.9. – 24.9. 2018						
PARAMETR	HODNOTY						JEDNOTKA
RBC	3,72	3,44	3,14	2,84	3,37	3,37	10 ¹² /l
Hb	113,00	100,00	97,00	85,00	107,00	101,00	g/l
HCT	0,331	0,303	0,283	0,245	0,295	0,295	l
MCV	89,00	88,00	90,00	86,00	88,00	88,00	fl
MCH	30,30	29,20	30,70	30,10	31,60	30,00	pg
MCHC	340,00	331,00	341,00	349,00	361,00	342,00	g/l
RDW	14,40	14,00	14,20	14,70	14,50	14,90	%
PLT	133,00	111,00	105,00	73,00	64,00	46,00	10 ⁹ /l
WBC	8,50	13,80	9,10	7,50	6,50	4,60	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Mikroskopický nález: shluky trombocytů nenalezeny

Hemokoagulace: screeningové testy v normě, provedeno vyšetření speciální koagulace s nálezem zvýšené koagulační aktivity faktoru VIII, a hraniční hodnota pro protein C

Biochemie: odhad glomerulární filtrace

Diferenciální diagnostika: STicExpert HIT pozitivní

Kontrolní laboratorní vyšetření 12.10. 2018

Krevní obraz:

Tabulka č. 6 Laboratorní hodnoty KO 12.10. 2018

DEN		12.10. 2018
PARAMETR	HODNOTA	JEDNOTKA
RBC	3,89	10 ¹² /l
Hb	115,00	g/l
HCT	0,342	l
MCV	88,00	fl
MCH	29,50	pg
MCHC	336,00	g/l
RDW	15,30	%
PLT	237,00	10 ⁹ /l
WBC	6,40	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Mikroskopický nález: nález aktivovaných lymfocytů

Hemokoagulace: PT-R **3,50** 1

Závěr:

Pozitivní test STicExpert HIT potvrdil přítomnost HIT protilátek a potvrdil diagnózu heparinem indukované trombocytopenie po LMWH.

8.5 Kazuistika č. 5

Gravidní žena, 40 let

Popis kazuistiky:

40ti letá gravidní žena hospitalizována pro předčasný odtok plodové vody. Následujícího dne porodila přirozenou cestou zdravého syna. Nastaly však poporodní komplikace: děložní hypotonie reagující na uterotonika,

podslizniční hematom pochvy. Indikace krevní transfuze k doplnění krevního objemu po porodních krevních ztrátách. Po podání čerstvé mražené plazmy došlo k alergické reakci. Provedeno kontrolní laboratorní vyšetření, potvrzující rozvoj HELLP syndromu.

Léčebný postup:

Na základě laboratorně potvrzené diagnózy HELLP syndromu byla okamžitě zahájena symptomatická terapie. Nadále podávány krevní transfuze k léčbě přetrvávající anémie. Zahájena substituce železem.

Došlo k postupné normalizaci laboratorních hodnot a zlepšení celkového stavu, proto byla hospitalizace ukončena. Po dvou dnech v domácí rekonvalescenci nastaly komplikace, prešokový stav při masivním krvácení z rodidel. Opětovná hospitalizace s nutností revize dutiny děložní. HELLP syndrom nepotvrzen.

Laboratorní nález:

Krevní obraz:

Tabulka č. 7 Kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO 17.11. 2018 v časovém rozmezí 07:12 – 19:58 hodin

DEN	17.11. 2018 07:12 – 19:58			
PARAMETR	HODNOTY			JEDNOTKA
RBC	2,32	3,02	2,89	10 ¹² /l
Hb	72,00	93,00	86,00	g/l
HCT	0,212	0,274	0,259	l
MCV	92,00	91,00	90,00	fl
MCH	31,10	30,60	29,70	pg
MCHC	340,00	338,00	332,00	g/l
RDW	16,00	15,40	15,60	%
PLT	87,00	85,00	85,00	10 ⁹ /l
WBC	20,70	21,40	20,20	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Mikroskopický nález: makrotrombocyty bez nálezu shluků trombocytů, přítomna anizocytóza trombocytů; schistocyty 2/1000

Hemokoagulace:

**Tabulka č. 8 Kontinuální monitorace koagulace 17.11. 2018
v časovém rozmezí 07:12 – 19:58 hodin**

DEN	17.11. 2018 07:12 – 19:58			
PARAMETR	HODNOTY			JEDNOTKA
APTT	33,80	40,20	37,90	s
APTT-R	1,26	1,49	1,41	1
PT	11,60	11,50	10,90	s
PT-R	1,13	1,12	1,06	1
INR	1,10	1,10	1,10	1
TT	17,00	18,50	18,20	s
TT-R	1,35	1,47	1,44	1
Fibrinogen	2,71	3,21	3,31	g/l
Antitrombin	50,00	-	48,00	%

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Biochemie:

Tabulka č. 9 Laboratorní hodnoty biochemického vyšetření 12.10. 2018

DEN	12.10. 2018		
PARAMETR	HODNOTA		JEDNOTKA
Bilirubin	10,00	6,00	μmol/l
ALT	5,71	5,51	μkat/l
AST	10,49	9,70	μkat/l
LD	8,12	-	μkat/l
Močovina	9,10	8,20	mmol/l
Kreatinin	110,00	88,00	μmol/l
Kyselina močová	560,00	525,00	μmol/l
Celková bílkovina	45,80	46,90	g/l
Albumin	23,40	25,20	g/l
Haptoglobin	1,04	-	g/l

Zdroj: Biochemická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Kontrolní laboratorní vyšetření 28.11. 2018.

Krevní obraz:

Tabulka č. 10 Laboratorní hodnoty KO 28.11. 2018

DEN		28.11. 2018
PARAMETR	HODNOTA	JEDNOTKA
RBC	2,59	10 ¹² /l
Hb	81,00	g/l
HCT	0,246	l
MCV	95,00	fl
MCH	31,40	pg
MCHC	330,00	g/l
RDW	15,30	%
PLT	320,00	10 ⁹ /l
WBC	8,80	10 ⁹ /l

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Hemokoagulace:

Tabulka č. 11 Laboratorní hodnoty koagulace 28.11. 2018

DEN		28.11. 2018	
PARAMETR	HODNOTA	JEDNOTKA	
APTT	40,60	s	
APTT-R	1,51	1	
PT	11,60	s	
PT-R	1,13	1	
INR	1,10	1	
TT	14,10	s	
TT-R	1,12	1	
Fibrinogen	4,62	g/l	
Antitrombin	94,00	%	
D-dimery kvantitativně	1,81	mg/l FEU	

Zdroj: Hematologická laboratoř ÚKBH FN Plzeň

Biochemie: normalizace laboratorních hodnot

Závěr:

U pacientky byl krátce po porodu laboratorně prokázán HELLP syndrom s následným залечением. Opětovné komplikace nebyly hodnoceny jako HELLP syndrom, ale jako lokální příčina krvácení. Nutná revize dutiny děložní pro přítomnost zbytku placentární tkáně.

Zhruba 3 – 4 % těhotných žen trpí preeklampsií, z nich u 20 % se rozvine HELLP syndrom. Z toho vyplývá, že asi u 40ti těhotných žen z 1000 těhotenství propukne preeklampsie a u 8 diagnostikovaných se preeklampsie rozvine v HELLP syndrom.

9 DISKUZE

Teoretická část bakalářské práce s názvem „Mikroangiopatická hemolytická anémie, jak může laboratoř přispět k diagnóze“ zahrnuje popis jednotlivých onemocnění spadajících do skupiny MAHA. Praktická část popisuje kazuistiky vybraných chorob, rozebírá provedená laboratorní vyšetření a analyzuje získané hodnoty jednotlivých parametrů a jejich odchylky od normy.

Cílem práce psané formou kvalitativního výzkumu je prokázat významnost laboratoře a laboratorních metod přispívajících k rychlé diagnostice mikroangiopatické hemolytické anémie. Dalším cílem je charakterizovat jednotlivé vyšetřované laboratorní parametry a stanovit ty, které jsou nejprůkaznější pro diagnostiku trombotických mikroangiopatií. Důležitým cílem je uvědomit si významnost změny poměru vyšetřovaných parametrů od normy či původní pacientovy hodnoty a spojitost mezi jednotlivými parametry.

Uvedené laboratorní metody u analýzy vybraných kazuistik v praktické části práce, jsou v dnešní době standardně využívány pro diagnostiku MAHA. Výsledné zjištění poukázalo na soulad mezi reálně prováděnou diagnostikou a diagnostikou MAHA uvedenou v aktuální literatuře.

Základem práce je kvalitativní šetření, pro které bylo nezbytné získat analyzovaná data. Uvedené hodnoty v praktické části práce byly získány ve Fakultní nemocnici Plzeň od vedoucí práce paní doktorky MUDr. Jitky Šlechtové. Kvalitativní výzkum zahrnuje pět kazuistik.

Kazuistika č. 1 představuje pacienta se získanou formou trombotické trombocytopenické purpury s přítomností autoprotilátek. Bylo provedeno laboratorní vyšetření KO s obrazem hypochromní normocytární anémie s anizocytózou erytrocytární populace. Zjištěná zvýšená hladina retikulocytů v souvislosti se zvýšenou hladinou bilirubinu a LD a současně snížená hladina haptoglobinu signalizuje na probíhající hemolýzu. V KO byla přítomná trombocytopenie, až $8 \cdot 10^9/l$ v EDTA; $15 \cdot 10^9/l$ v ThromboExactu. Stanovená souvislost mezi laboratorními parametry je v souladu se studií (Scully, 2017). Při vyšetřování nátěru periferní krve bylo nalezeno 106 schistocytů na 1000 erytrocytů. Z vyšetřovaných parametrů byla kvantifikace schistocytů vyhodnocena jako vysoce průkazný laboratorní parametr pro diagnostiku TMA, stejnou významnost nálezů schistocytů v krevním nátěru

potvrzují studie (Saha, 2017; Schapkaitz, 2017). Mezi biochemickými parametry byla vyšetřována hladina troponinu T, která vyšla zvýšená. Studie (Saha, 2017) uvádí souvislost mezi zvýšením troponinu I a akutní formou TTP. Naše zjištěná patologická hodnota laboratorního parametru troponinu T neodpovídá studii (Saha, 2017), která uvádí změny v troponinu I v souvislosti s TTP. Diagnóza získané formy TTP byla potvrzena diferenciální diagnostikou vyšetřením enzymu ADAMTS13 s neměřitelnou aktivitou. Ze získaného zjištění vyplývá, že uvedené laboratorní vyšetření metalloproteinázy ADAMTS13 je konfirmačním laboratorním testem pro potvrzení diagnózy TTP, též uvedeno ve studii (Scully, 2017).

Kazuistika č. 2 popisuje pacientku s vrozenou formou TTP potvrzenou vyšetřením ADAMTS13 s extrémně sníženou aktivitou, negativním výsledkem přítomnosti protilátek a molekulárním vyšetřením genu pro ADAMTS13 s přítomností mutace genu. Stejný diagnostický postup vrozené formy TTP je uveden ve studii (Scully, 2017). U pacientky se prováděla šestidenní kontinuální monitorace laboratorních hodnot KO. Prokázaná snížená hladina hemoglobinu, hematokritu a extrémní trombocytopenie je diagnostických kritériem pro pomyšlení na TTP a požadování diferenciální diagnostiky ADAMTS13. Studie (Saha, 2017) uvádí, že pacienti s TTP trpí sníženou hladinou hemoglobinu i hematokritu, trombocytopenií a významně zvýšenou hladinu LD, nepřímého bilirubinu a přítomností schistocytů. Naše pacientka nebyla vyšetřována na uvedené biochemické parametry (LD, nepřímý bilirubin), pouze vyšetření jaterních enzymů, které vyšlo v normě, z čehož vyplývá, že nemůžeme zcela vyloučit neshodu mezi námi zjištěnými výsledky a výsledky uvedenými ve studii (Saha, 2017), které jsou průkazné pro projevy TTP.

Kazuistika č. 3 a kazuistika č. 4 popisují případy heparinem indukované trombocytopenie. Důležitým uvědoměním si, při rozebírání jednotlivých případů HIT, je pokles hladiny trombocytů v periferní krvi z původní hodnoty trombocytů při zahájení heparinizace. Důvodem ke zpozornění je procentuální pokles destiček z hodnoty před podáním heparinu, a to pokles o 30 – 50 %. Stejně tvrzení je uvedeno ve studii (Fathi, 2018). Potvrzujícím testem, použitým v kazuistice HIT je STicExpect, kvalitativní detekce protilátek proti komplexům antiPF4/heparin v séru vyšetřovaného pacienta. Studie (Fathi, 2018) udává

vysokou senzitivitu, až 90 % daného testu a specifčnost až 95 % v časném poklesu trombocytů. Zvýšená citlivost je pro stanovení IgG. Uvádí tvrzení, že negativní výsledek testu silně vylučuje diagnózu HIT.

Kazuistika č. 5 popisuje případ gravidní ženy s rozvinutým HELLP syndromem po porodu. Z provedených laboratorních vyšetření byly nalezeny všechny standardní projevy plně rozvinutého HELLP syndromu. V KO je patrná hemolýza s poklesem hladiny hemoglobinu, hematokritu a snížené množství erytrocytů. Z biochemických parametrů signalizuje hemolýzu elevace enzymu LD, která byla patrná i v našem případě. Další přítomný projev HELLP syndromu, též námi detekovaný projev, je trombocytopenie. Klasifikace Mississippi uvedená v současné literatuře (Vlk, 2015) a studii (Rimaitis, 2019) bere za nejprůkaznější diagnostické kritérium HELLP syndromu zvýšenou hladinu LD a trombocytopenii. Daná upřednostňovaná laboratorní diagnostická kritéria dle klasifikace Mississippi byla zjištěná i v naší studii. Dalším kritériem z biochemických parametrů je elevace jaterních enzymů (ALT, AST) prokázaná v našich laboratorních výsledcích. Z hemokoagulačního vyšetření byly zjištěny změny ve screeningových koagulačních testech a hodnotě antitrombinu. Patologicky pozměněné hemokoagulační parametry souvisejí se stupněm rozvinuté diseminované intravaskulární koagulace. Z hlediska včasné diagnostiky HELLP syndromu je v rozporu laboratorní vyšetření a prvotní klinické příznaky subjektivně vnímané rodičkami (Rimaitis, 2019).

Souhrnem všeho nastudovaného k psaní bakalářské práce, jejímž hlavním důvodem je povznést cennost laboratoře a laboratorního vyšetření, je výčet zjištěných výsledných faktů. Pro diagnostiku mikroangiopatické hemolytické anémie je významné stanovení krevního obrazu s kladením větší pozornosti na známky hemolytické anémie a rozdílnost hladiny trombocytů od původní hodnoty. Vyšetřením hemokoagulace zjišťujeme stupeň rozvoje DIC. Pochopením souvislostí jak mezi hematologickými, tak biochemickými parametry je důležité pro další postupy v diagnostice MAHA. Správné odečtení schistocytů hraje zásadní roli. Hlavním bodem pro správnou a rychlou diagnostiku je uvědomění si spojitostí mezi klinickými příznaky a laboratorním vyšetřením. Jedno bez druhého by nemělo smysluplný význam.

ZÁVĚR

V mé bakalářské práci s názvem „Mikroangiopatická hemolytická anémie, jak může laboratoř přispět k diagnóze“ se zaměřuji spíše na teoretické poznatky o daném tématu. V první kapitole jsem nastínila obecné informace o mikroangiopatické hemolytické anémii spadající do skupiny hemolytických anémií, které vznikají mechanickou fragmentací, jinak zdravých erytrocytů. Dále jsem se snažila popsat nejprůkaznější laboratorní parametry, jak hematologické, tak biochemické a jejich odchylky od normy, které nám napomáhají diagnostikovat skupinu trombotických mikroangiopatií.

V dalších kapitolách jsem probrala problematiku jednotlivých chorob, které spojuje doprovázející mikroangiopatická hemolytická anémie. U každé z uvedených nemocí jsem popsala etiopatogenetický mechanismus a diferenciální laboratorní diagnostiku, která definitivně rozhoduje o diagnóze.

První uvedenou konkrétní chorobou je trombotická trombocytopenická purpura a jí velice podobný hemolyticko-uremický syndrom, lišící se v aktivitě enzymu ADAMTS13. Další spadající chorobou do MAHA je závažný HELLP syndrom spojený s těhotenstvím. Heparinem indukovaná trombocytopenie, jako následek léčby heparinem. Diseminovaná intravaskulární koagulace, jejíž tíže je závislá na prohlubování mikroangiopatické hemolytické anémie a sekundární mikroangiopatická hemolytická anémie související s maligním onemocněním.

V další části bakalářské práce jsem popsala kazuistiky vybraných chorob. U každé kazuistiky jsem uvedla provedené laboratorní vyšetření včetně patologických hodnot, průkazných pro diagnostiku trombotických mikroangiopatií.

Význam této bakalářské práce je hlavně v pochopení ne příliš snadného tématu a v prohloubení dalších znalostí z oboru hematologie. Důležité uvědomění si, že laboratoř hraje zásadní roli v diagnostice a včasné nasazené léčbě, že je nezbytným prostředníkem mezi pacientem a lékařem. Pochopení souvislostí mezi laboratorními parametry a jejich hodnotami je významné pro správnou diagnostiku následovanou správnou léčbou, důležitou pro snížení mortality na onemocnění, která jsou spojená doprovázející mikroangiopatickou hemolytickou anémií.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABILDGAARD, Ulrich and Ketil HEIMDAL. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): a review. In: *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2013, **166**(2), 117-123. ISSN 0301-2115.

CETKOVSKÝ, Petr et al. *Intenzivní péče v hematologii*. Praha: Galén, 2014. ISBN 80-7262-255-2.

FABER, Edgar et al. *Základy hematologické diagnostiky*. Praha: Mladá fronta, 2015. ISBN 978-80-204-3742-6.

FATHI, Mahmoud. *Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): Identification and treatment pathways* [online]. In: *Global cardiology science & practice*. 2018 [cit. 23.3. 2019]. **2**(15). Dostupné z: DOI:10.21542/gcsp.2018.15.

GUMULEC, Jaromír. *Možnosti diagnostiky heparinem indukované trombocytopenie v České republice*. In: *Vnitřní lékařství*. 2012, **58**(7,8), 564-570. ISSN 1801-7592.

INDRÁK, Karel, ed. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Triton, 2014. ISBN 978-80-7387-722-4.

KAZDA, Antonín et al. *Kritické stavy*. Praha: Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-763-9.

KLENER, Pavel et al. *Vnitřní lékařství*. Praha: Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-705-9.

KOZÁK, Tomáš. *Imunitní trombocytopenie*. Praha: Maxdorf, 2015. ISBN 978-80-7345-370-1.

MALÝ, J., P. KESSLER, J. GUMULEC a kol. *Trendy v profilaxi žilní tromboembolické nemoci*. Praha: Mladá fronty, 2010. ISBN 978-80-204-2021-3.

MORTON, Jordan M. and James N. GEORGE. Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in Patients With Cancer. In: *Journal of Oncology Practice*. 2016, **12**(6), 523-530. ISSN 1554-7477.

MUNTAU, Anie, Carolina. *Pediatric*. Praha: Galén, 2014. ISBN 978-80-247-4588-6.

PENKA, M., I. PENKA, J. GUMULEC a kol. *Krvácení*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-0689-4.

PENKA, M., A. BULIKOVÁ, a kol. *Neonkologická hematologie*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2299-3.

POSPÍŠILOVÁ, Š., D. DVOŘÁKOVÁ, J. MAYER a kol. *Molekulární hematologie*. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7262-942-8.

RIMAITIS, K., L. GRAUSLYTE, A. ZAVACKIENE, V. BALIULIENE, R. NADISAUSKIENE, A. MACAS. *Diagnosis of HELLP Syndrome: A 10-Year Survey in a Perinatology Centre* [online]. In: International journal of environmental research and public health. 2019 [cit. 24.3. 2019], **16**(1), 109. Dostupné z: DOI: 10.3390/ijerph16010109.

SAHA, M., J. K. McDANIEL, X. L. ZHENG. *Thrombotic thrombocytopenic purpura: pathogenesis, diagnosis and potential novel therapeutics* [online]. In: Journal of thrombosis and haemostasis. 2017 [cit. 23.3. 2019]. **15**(10), 1889-1900. Dostupné z DOI:10.1111/jth.13764.

SABAU, L., L. Terriou, F. Provot, F. Fourrier, C. Roumier, C. Caron, S. Susan and A.S. Ducloy-Bouthors. Are there any additional mechanisms for haemolysis in HELLP syndrome?. In: *Thrombosis Research*. 2016, **142**, 40-43. ISSN 0049-3848.

SCULLY, M., S. CATALAND, P. COPPO, J. RUBIA, K. D. FRIEDMAN, J. KREMER, HOVINGA, B. LÄMMLE, B. MATSUMOTO, K. PAVENSKI, E. SADLER, R. SARODE, H. WU. *Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic*

Microangiopathies [online]. In: Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2017 [cit. 23.3. 2019]. **15**, 312 – 322. Dostupné z: DOI: 10.1111/jth.13571.

SCHAPKAITZ, Elise and Michael Halefom, MEZGEBE. *The Clinical Significance of Schistocytes: A Prospective Evaluation of the International Council for Standardization in Hematology Schistocyte Guidelines*. In: Turkish journal of haematology : official journal of Turkish of Haematology. 2017, **34**(1), 59-63. ISSN 1300-7777.

SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.

SMĚRNICE, SME/8/003/09. *Laboratorní příručka – ÚKBH*. FN Plzeň, 1.5. 2018. Dostupné z: <https://www.fnplzen.cz/>.

ŠIMETKA, O., R. VLK a M. PROCHÁZKA. *HELLP syndrom*. Praha: Maxdorf, 2013. ISBN 978-80-7345-361-9.

VLK, Radovan a kol. *Preeklampsie*. Praha: Maxdorf, 2015. ISBN 978-80-7345-460-9.

VYDRA, J., P. CETKOVSKÝ a kol. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta, 2015. ISBN 978-80-204-3698-6.

ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2.

ZLATOHLÁVEK, Tomáš a kol. *Interna*. Praha: Currenta Media, 2017. ISBN 978-80-88129-23-3.

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1	1
Povolení sběru informací ve FN Plzeň	67

Příloha č. 1 Povolení sběru informací ve FN Plzeň



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ

Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči

Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní

Ivana Cikánová

Studentka oboru Zdravotní laborant

Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných v *Ústavu klinické biochemie a hematologie (ÚKBH) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Mikroangiopatická hemolytická anémie, jak může laboratoř přispět k diagnóze*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborant ÚKBH souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **MUDr. Jitka Šlechtová, lékařka ÚKBH FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovas@fnplzen.cz

6. 4. 2018