

Refrakterita k trombocytovým transfuzním přípravkům

R. Pacasová, E. Tesařová, B. Kubešová

Transfúzní oddělení a krevní banka FN Brno, Pracoviště medicíny dospělého věku, prim. MUDr. Eva Tesařová

Souhrn: Trombocyty zajišťují, spolu s cévami a plazmatickým koagulačním systémem, hemostázu. Trombocytové transfúzní přípravky jsou užívány k substituční léčbě u pacientů s krvácivými projevy a současným výskytem trombocytopenie či k profylaxi krvácení u pacientů s trombocytopenií nebo vzácněji s trombocytopatií. Účinnost transfuze trombocytů je definována tzv. CCI (Corrected Count Increment) indexem. V případě nedostatečného vzestupu počtu trombocytů se může jednat o neimunní procesní refrakteritu, která je vázána na kvalitu trombocytového transfúzního přípravku, neimunní klinickou refrakteritu, jež je důsledkem zvýšené spotřeby trombocytů v těle pacienta, nebo imunní refrakteritu způsobenou allo-protilátkami nebo vzácněji auto-protilátkami HLA, méně často protilátkami proti specifickým antigenům trombocytů či protilátkami ve skupinovém systému AB0. Refrakterita k trombocytům představuje závažnou komplikaci léčby u polytransfundovaných pacientů. Péče o pacienta s refrakteritou k trombocytům vyžaduje kvalifikovaný přístup s vysokými ekonomickými náklady na jeho léčbu, ošetřování a monitoring klinického stavu. Podmínkou úspěchu při léčbě pacientů s refrakteritou k trombocytům je velmi úzká mezioborová spolupráce mezi klinickými lékaři a transfuziologi.

Klíčová slova: refrakterita – trombocyty – transfuze

Refractoriness to platelet transfusion

Summary: Platelets together with blood vessels and coagulation promote hemostasis. Platelet transfusions are indicated for therapy in patients with actual bleeding and thrombocytopenic manifestations or for prophylaxis against major bleeding of thrombocytopenic or thrombocytopathic patients. Post-transfusion platelet increment is counted as the CCI index. The inadequate platelet increment could signify for non-immune procedural platelet refractoriness bound on the quality of platelet transfusion, non-immune clinical platelet refractoriness caused by increased platelets consumption or immunological platelet refractoriness due to presence of allo-antibodies or, rarely, auto-HLA antibodies, less frequently by antibodies against HPA (Human Platelet Antigen) and AB0. Platelet refractoriness presents a serious complication for patients with multiple platelet transfusions. Taking care about platelet refractoriness patients demands skilled approach with high economic costs of treatment, attendance, and clinical monitoring. Term of achievement in treatment of platelet refractoriness patients should be a closer cooperation between clinicians and transfusiology specialists.

Key words: refractoriness – platelets – transfusion

Trombocyty zajišťují, spolu s cévami a plazmatickým koagulačním systémem, hemostázu [1]. Základní hemostatickou funkcí trombocytů je jejich účast na tvorbě primární cévní zátky při poškození či změnách endotelu cévní stěny. Z uvedeného důvodu jsou transfuze trombocytů již téměř 50 let rutinně užívány k substituční léčbě u pacientů s krvácivými projevy a současným výskytem trombocytopenie, či k profylaxi krvácení u pacientů s trombocytopenií nebo vzácněji s trombocytopatií.

Profylaktické podání transfuze trombocytů je doporučováno u pacientů s počtem trombocytů nižším než $20 \times 10^9/l$ a s dalším rizikem, kterým může být klinický příznak (horečka, infekce, renální selhání, postižení centrálního nervového systému, nádorové onemocnění, sklon ke krvácení, splenomegalie, cévní malformace), laboratorní nález (jiná hemokoagulační porucha) nebo současné podávání léků ovlivňujících funkce trombocytů a hemostázu (kortikoidy, peniciliny, kyselina acetylsalicylo-

vá, antikoagulancia, amfotericin B), či jiná léčba pacienta (dialýza, separační techniky, invazivní výkon). Významnou roli v rozhodovacím procesu k profylaktickému podání transfuze trombocytů hraje znalost funkčnosti trombopoëzy daného pacienta. Útlum trombopoëzy se vyznačuje menší velikostí trombocytů a větším sklonem ke krvácení než stavy se zvýšeným obrátem krevních destiček, tedy funkční trombopoëzou. V případě poklesu trombocytů pod $5 \times 10^9/l$ je indikováno profy-

laktické podání transfuze trombocytů vždy, s výjimkou definovaných diagnóz, kterými jsou:

- trombotická trombocytopenická purpura (TTP),
- heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT),
- potransfuzní purpura (PTP).

Profylaktické podání transfuze trombocytů je rovněž indikováno u pacientů před plánovanými operacemi nebo jinými invazivními výkony v případě poklesu trombocytů pod hodnotu $50 \times 10^9/l$ (2). U plánovaných a z pohledu negativního důsledku krvácení i vysoce rizikových invazivních výkonů, za které jsou považovány operace centrálního nervového systému, oka a srdeční bypassy, je profylaktické podání trombocytů indikováno při poklesu trombocytů pod hodnotu $80 \times 10^9/l$.

Léčebné podání transfuze trombocytů je indikováno při poklesu k hodnotě $75 \times 10^9/l$ v případech život ohrožujícího krvácení. Počet trombocytů v rozmezí hodnot $30\text{--}75 \times 10^9/l$ je indikací k transfuzi trombocytů při závažném krvácení, jakými jsou krvácení z gastrointestinálního nebo urogenitálního traktu či jiný typ krvácení, který vyžaduje substituční léčbu erytrocyty. Méně závažné krvácení s možnými druhotnými komplikacemi, jakými může být například krvácení do kůže nebo svalů, vyžaduje terapeutické podání transfuze trombocytů až při poklesu trombocytů k hodnotě $30 \times 10^9/l$.

Trombocytopenii je možné definovat na základě výsledků laboratorních testů, například vyšetřením agregace trombocytů a/nebo vyplývá z rozboru klinické situace a léčby daného pacienta. Hodnota počtu trombocytů v těchto případech není pro podání transfuze trombocytů rozhodující. O indikaci k podání transfuze trombocytů u pacientů s trombocytopenií rozhoduje výhradně hematolog.

Zařízení transfuzní služby získávají trombocyty, respektive vyrábějí trom-

bocytové transfuzní přípravky, z krve zdravých dárců, jež splnili dárcovská kritéria, dvěma způsoby. Směsné trombocytové transfuzní přípravky jsou vyráběny z odběrů plné krve od několika, nejčastěji 4–6 dárců poolováním proto, aby bylo možné získat v jedné transfuzní jednotce dostatečnou dávku trombocytů pro dospělého pacienta. Směsné trombocytové transfuzní přípravky jsou vyráběny z plazmy bohaté na destičky nebo z buffycoatu. Trombocytové transfuzní přípravky získané od jediného dárce krve jsou vyráběny technikami aferézy na separátorech. Obsah trombocytů je v obou typech trombocytových transfuzních přípravků vyšší než 2×10^{11} v jedné transfuzní jednotce. Objem trombocytových transfuzních přípravků kolísá s ohledem na použitou metodu jejich výroby mezi 250–400 ml. Trombocyty jsou v trombocytových transfuzních přípravcích resuspendovány v následujícím poměru: nejméně 1 ml plazmy nebo náhradního roztoku na $1,5 \times 10^9$ trombocytů. Trombocytové transfuzní přípravky jsou skladovány v nativní formě při teplotě 20 až 24 °C za neustálé agitace po dobu pěti dnů ve speciálních vacích, jejichž stěny umožňují výměnu plynů, zejména dostatečný přístup kyslíku, který je pro zachování funkcí trombocytů nezbytný; doporučená hodnota pH, měřena na konci doby skladování a při teplotě 22 °C se pohybuje v rozmezí hodnot 6,4–7,4; kontaminace leukocyty u deleukotizovaných trombocytů musí být menší než 1×10^6 leukocytů v jedné transfuzní jednotce, u nedeleukotizovaných trombocytů je kontaminace leukocyty přibližně 1000krát vyšší [3]. Krev dárců, z níž jsou vyráběny trombocytové transfuzní přípravky, je v České republice povinně laboratorně testována na přítomnost známek hepatitidy B, hepatitidy C, HIV 1/2, syfilis a přítomnost klinicky významných imunních antierytrocytárních protilátek. Ke klinickému použití mohou

být propuštěny pouze ty transfuzní přípravky, které jsou v definovaných testech nereaktivní [4,5].

Dalším laboratorně testovaným znakem, který musí být uváděn na štítku každého trombocytového transfuzního přípravku, je informace o krevní skupině dárce trombocytů v systému AB0 a Rh(D) [6]. Při podávání trombocytových transfuzních přípravků je respektována krevní skupina v systému AB0 i Rh(D). V situacích, kdy nejsou k dispozici trombocyty dané krevní skupiny, je možné podat trombocyty dle kompatibility krevní plazmy v systému AB0. Rovněž je možné použít trombocyty dárce krevní skupiny 0, avšak s nízkým titrem aglutininů anti-A a anti-B (nejvýše do titru 1 : 32), případně trombocyty dárce krevní skupiny 0, které byly resuspendovány v náhradním roztoku. Trombocyty Rh(D) negativní je možné podávat pacientovi Rh(D) pozitivnímu, nikoliv naopak. Podání trombocytového transfuzního přípravku není vázáno na provedení testu kompatibility v laboroři.

V případech, kdy jsou trombocyty deleukotizovány i dodatečně (post-storage) a garantovaný obsah leukocytů je snížen v transfuzním přípravku na hodnotu menší než 1×10^6 leukocytů v jedné transfuzní jednotce, mění se i název transfuzního přípravku na trombocyty deleukotizované. Skutečnost o provedení γ ozáření trombocytového transfuzního přípravku 25–50 Gy, jako prevence výskytu reakce s transfuzí asociovaného štěpu proti hostiteli, se rovněž uvádí na štítku trombocytového transfuzního přípravku [6]. Pro získání snadného přehledu o provedeném ozáření používají zařízení transfuzní služby certifikované dozimetrické štítky, které se po γ ozáření vizuálně změní.

Doporučená dávka trombocytů pro transfuzi se řídí hmotností pacienta, aktuálním počtem jeho trombocytů, počtem trombocytů, kterého je třeba u pacienta dosáhnout,

Tab. 1. Vzorec pro výpočet dávky trombocytů.

$$\text{počet trombocytů v přípravku (10}^9\text{)} = \frac{\text{požadovaný vzestup trombocytů o (10}^9\text{/l)} \times \text{objem cirkulující krve (l)}}{F}$$

kde: *F* představuje faktor, za který lze dosadit následující hodnoty:

0,67 – pro pacienty s fyziologickou slezinou, 0,40 – pro pacienty se splenomegalií, 1,00 – pro pacienty po splenektomii

Tab. 2. Vzorec pro stanovení CCI indexu.

$$\text{CCI} = \frac{\text{počet trombocytů po transfuzi (10}^9\text{/l)} - \text{počet trombocytů před transfuzí (10}^9\text{/l)}}{\text{počet transfundovaných trombocytů (10}^{11}\text{)}} \times \text{povrch těla (m}^2\text{)}$$

případně dalšími riziky, zmíněnými v úvodu, jsou-li u pacienta přítomny. Pro výpočet dávky trombocytů je možno použít vzorec (tab. 1). Jedna terapeutická dávka, obvykle 200 až 400 × 10⁹ trombocytů pro dospělého pacienta s tělesnou hmotností okolo 70 kg, by měla zvýšit počet trombocytů o hodnotu 10–20 × 10⁹/l [5,7].

Účinnost podání trombocytového transfuzního přípravku lze hodnotit klinicky jako zástavu či snížení intenzity krvácení nebo jako nepřítomnost krvácení v případě jeho profylaktického podání. Laboratorní sledování vzestupu počtu trombocytů po transfuzi by mělo být rutiní součástí každé léčby trombocyty. Zvýšení počtu trombocytů je definováno tzv. CCI indexem (Corrected Count Increment), který lze teoreticky stanovit dle vzorce (tab. 2). Hodnoty CCI indexu jednu hodinu po transfuzi trombocytů by měly dosahovat minimálně hodnoty 10. Po 24 hodinách pak minimálně hodnoty 7,5. Přítomnost některých rizik, zmíněných dříve, bývá často spojena s nižším vzestupem trombocytů po transfuzi. V případech, kdy hodnoty CCI indexu 1 hodinu po transfuzi dosahují méně než 7,5 nebo za 18 hodin po transfuzi méně než 4,5, se pravděpodobně jedná o refrakteritu k trombocytovým transfuzním přípravkům [2,7], která představuje nejzávažnější komplikaci léčby trombocyty u polytransfundovaných pacientů

Tab. 3. Typy refrakterity.

typ refrakterity	četnost výskytu	příčina vzniku
neimunní – procesní	< 1 %	jakost trombocytového transfuzního přípravku – počet funkčních trombocytů – stáří > 72 hodin – vliv transportu, skladování – způsob aplikace
– klinická	> 80 %	zvýšená konzumpce trombocytů – vliv použité léčby – klinické příznaky
imunní	15 %	allo- nebo autoprotilátky pacienta – anti-HLA protilátky – antileukocytární protilátky – anti-HPA protilátky – AB0 protilátky

s předpokládanou četností výskytu 5–15 % [8,9]. Refrakterita k trombocytům by měla být stanovena na základě nejméně dvou na sobě nezávislých, AB0 kompatibilních transfuzí trombocytů, které nebyly skladovány déle než 72 hodiny a po kterých nebylo u pacienta dosaženo očekávaných hodnot CCI indexu. Vzhledem ke skutečnosti, že na vzniku refrakterity se může podílet mnoho různých faktorů, je nutné primárně stanovit, o jaký typ refrakterity k trombocytům se jedná (tab. 3) [10].

Nejméně početnou skupinu tvoří neimunní procesní refrakterita, při které nedostatečná kvalita trombo-

cytového transfuzního přípravku nebo nevhodný způsob jeho podání negativně ovlivní účinnost transfuze. Nízké hodnoty CCI indexu za 24 hodiny po podání transfuze trombocytů a současně uspokojivé hodnoty CCI indexu za jednu hodinu po podání transfuze svědčí pro neimunní klinickou refrakteritu. Jedná se o zvýšenou spotřebu trombocytů v těle pacienta.

Nedostatečná účinnost transfuze trombocytů má však také imunitní příčinu. Imunní refrakterita je způsobena allo- nebo vzácněji auto-protilátkami proti HLA antigenům (HLA – Human Leucocyte Antigens), méně často protilátkami proti speci-

fickým antigenům trombocytů (HPA – Human Platelet Antigens) či protilátkami ve skupinovém systému AB0, jehož antigeny, stejně jako HLA a HPA, trombocyty rovněž slabě exprimují. Při podezření na imunní refrakteritu k trombocytům je třeba provést nejprve vyloučení procesních a klinických důvodů refrakterity. Nedojde-li po vyloučení neimunních důvodů k očekávanému vzestupu hodnot CCI indexu po transfuzi trombocytů, jedná se velmi pravděpodobně o imunní refrakteritu. Mezi faktory, které významně ovlivňují četnost vzniku refrakterity k trombocytům, lze zařadit:

- stav imunitního systému pacienta; imunizace a potransfuzní reakce v anamnéze, laboratorní průkaz protilátek;
- nutnost opakované terapie transfuzními přípravky; za kritický je považován počet nejméně tří transfuzí v průběhu 12 měsíců;
- obsah leukocytů v podaných transfuzích; četnost výskytu imunní refrakterity je až o 10 % nižší u pacientů, jimž byly podávány de-leukotizované transfuzní přípravky [10];
- ozáření trombocytových transfuzních přípravků ultrafialovými paprsky B; četnost výskytu imunní refrakterity je až o 8 % nižší u pacientů, jimž byly podávány UVB ozářené transfuzní přípravky [10,11].
- případy, v nichž bylo vysloveno podezření na imunní refrakteritu k trombocytům; u pacienta je nezbytné provedení následujících laboratorních stanovení:
 - protilátky proti HLA antigenům,
 - protilátky proti trombocytům,
 - HLA typizace pacienta v I. třídě, zejména v lokusu A a B.

Zajištění trombocytů pro pacienta, u kterého byla diagnostikována imunní refrakterita k trombocytům, je velmi obtížné. Přesto jsou definovány strategie, jak v takových případech postupovat [9,10,11]:

- výběr HLA otypovaného dárce trombocytů a příprava trombocytů co nejvíce shodných v HLA-A a HLA-B antigenech s antigeny pacienta;
- typování antigenů HLA-C lokusu není nutné;
- výběr HLA trombocytů s antigeny v lokusu HLA-A a HLA-B, proti kterým pacient nemá zjištěny anti-HLA protilátky;
- výběr trombocytů kompatibilních na základě negativního výsledku křížové zkoušky v lymfocytotoxickém testu;
- výběr HLA-A a HLA-B identických trombocytů je důležitější než AB0 skupinová příslušnost; v některých situacích však může být inkompatibilita v AB0 systému příčinou neúčinnosti HLA-A a HLA-B identických trombocytů.

Jiné léčebné strategie u pacientů s imunní refrakteritou k trombocytům spočívají v podání nespecifických intravenózních imunoglobulinů a u Rh(D) pozitivních pacientů v podání specifických anti-Rh(D) imunoglobulinů. Efekt intravenózních imunoglobulinů není dlouhodobý a nezajistí funkčnost transfundovaných trombocytů v krevním oběhu pacienta ani po dobu 24 hodin. Transfuze trombocytů, které byly ozářeny ultrafialovými paprsky B a které významně snižují četnost výskytu imunní refrakterity, nejsou v těchto situacích rovněž účinné. Použití nových technologií pro ošetření trombocytů, které významně snižují expresi HLA antigenů na trombocytech bez negativních dopadů na jejich funkčnost, byly na malých skupinách pacientů limitovány vyšší četností výskytu potransfuzních reakcí.

Přestože principy HLA alloimunitace byly popsány před více než 30 lety, není v současnosti k dispozici jednoznačně popsaná účinná léčebná strategie. Péče o pacienta s refrakteritou k trombocytům vyžaduje kvalifikovaný přístup s vysoký-

mi ekonomickými náklady na léčbu, ošetřování a monitoring klinického stavu. Podmínkou úspěchu při léčbě pacientů s refrakteritou k trombocytům je velmi úzká mezioborová spolupráce mezi klinickými lékaři a transfuziologi.

V neposlední řadě je třeba zmínit také skutečnost, že bez tisíců dobrovolných dárců krve by nebylo možné náročnou péči o pacienty s trombocytopenií vůbec zajistit. Z uvedeného důvodu si dovoluujeme požádat vás všechny, lékaře a klinické kolegy, kteří podání transfuzních přípravků, nejen trombocytových, indikujete, abyste na základě svých možností propagovali ve svém okolí dárcovství krve.

Literatura

1. Penka M, Buliková A, Matýšková M et al. Hematologie I. Neonkologická hematologie. Praha: Grada Publishing 2001.
2. Cetkovský P et al. Intenzivní péče v hematologii. Praha: Galén 2004.
3. Guide to the preparation, use, and quality assurance of blood components. 10th ed. Council of Europe Publishing 2004.
4. Vyhláška 411. Sbírka zákonů České republiky 2004.
5. Optimal use of blood: summaries of component characteristics. Council of Europe Publishing 2004.
6. Standard značení transfuzních přípravků. Metodické opatření MZ ČR 606/7 2003.
7. Turek P. Racionální hemoterapie. Transfuze a hematologie dnes 2002; 4: 124–128.
8. Rebulla P. Refractoriness to platelet transfusion. Curr Opin Hematol 2002; 9: 516–520.
9. Sacher RA, Kickler TS, Schiffer CA et al. Management of patients refractory to platelet transfusion. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 409–414.
10. Rebulla P. A mini-review on platelet refractoriness. Haematologica 2005; 90: 247–253.
11. Murphy MF. Practical Transfusion Medicine. Philadelphia: Blackwell Science 2001.

RNDr. Rita Pacasová, Ph.D.
www.fnbrno.cz
e-mail: rpacasova@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 6. 5. 2005
Přijato k otištění: 6. 5. 2005