

Využití parametru IPF (Immature platelet fraction) v laboratorní diagnostice

M. Ryzí, J. Gumulec

Ústav klinické hematologie FN Ostrava, přednosta prim. MUDr. Jaromír Gumulec

Souhrn: Mladé destičky – retikulotrombocyty – jsou markerem trombopoézy. Jejich stanovení je možno využít především v laboratorní diagnostice trombocytopenií a při monitorování kinetiky trombocytů po chemoterapiích a transplantacích kostní dřeně. Dříve byly retikulotrombocyty vyšetřovány pomocí průtokového cytometru. Toto stanovení bylo drahé, časově náročné a nestandardizovatelné. Nyní umožňuje jeho zavedení do rutinní praxe analyzátor Sysmex XE-5 000, který měří mladé destičky jako součást krevního obrazu a vyjadřuje je jako parametr IPF (Immature platelet fraction).

Klíčová slova: retikulotrombocyty – IPF – trombocytopenie

The application of IPF (Immature platelet fraction) in laboratory diagnostics

Summary: Young platelets – reticulated platelets – are a marker of the thromopoiesis. The determination of reticulated platelets can be used to a laboratory diagnosis of thrombocytopenias and to the monitoring of a platelet kinetics after the chemotherapy and after bone marrow transplantation. Reticulated platelets have been measured by flow cytometry. This determination has been expensive, time spending and it has been never standardise. Now it is possible to measure young platelets as a part of the full blood count by the haematological analyser Sysmex XE-5 000. Reticulated platelets are named as IPF (Immature platelet fraction) in this analyser.

Key words: reticulated platelets – IPF – thrombocytopenia

Úvod

Trombocyty jsou bezjaderné buněčné fragmenty s funkcí v řadě fyziologických procesů (stavění krvácení, vznik trombózy, metastazování tumorů aj.) [1].

Mají omezenou proteosyntetickou aktivitu a relativně krátkou životnost. V krevním oběhu kolují asi 10 dní. Z toho vyplývá, že při normálním počtu trombocytů v periferní krvi ($150\text{--}400 \times 10^9/\text{l}$) [2] se každý den musí obnovit přibližně 10 % z jejich celkového počtu [3].

Nově vznikající trombocyty mají některé vlastnosti odlišné od starších krevních destiček (větší objem a obsah RNA), což umožňuje jejich odlišení v rámci laboratorního vyšetření krevního obrazu (parametry střední objem destiček – MPV a frakce nezralých destiček – IPF) [4]. Stanovení celkového množství nezralých, tj. mladých trombocytů může mít významnou roli v laboratorní diagnostice některých hematologických onemocnění, především trombocytopenií.

Co to jsou retikulotrombocyty?

Jako **retikulotrombocyty** se označují nezralé trombocyty bohaté na RNA. Jsou větší, fyziologicky aktivnější a analogické k retikulocytům. Jejich poměr k celkovému počtu trombocytů **odráží intenzitu trombopoézy** [4].

Funguje-li kostní dřeň normálně, má počet retikulotrombocytů v periferní krvi **inverzní vztah k počtu trombocytů** – čím nižší množství krevních destiček, tím vyšší podíl z nich tvoří retikulotrombocyty a naopak.

Jak se retikulotrombocyty stanovují?

Množství retikulotrombocytů v krvi lze stanovit **průtokovou cytometrií s využitím fluorescenčních barviv, které vážou nukleové kyseliny** (např. thiazolová oranž) [5].

Jsou-li retikulované destičky stanovovány na průtokovém cytometru, je měřený parametr označován jako high fluorescent platelet fraction (HFPF – frakce vysoce fluorescenčních trombo-

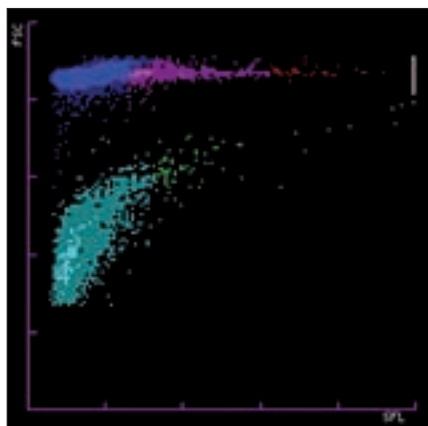
cytů). Jelikož i použití shodného barviva přinášelo na různých pracovištích rozdílné výsledky a referenční rozmezí, nepodařilo se tento test nikdy standardizovat a zavést do rutinní praxe [6].

Retikulotrombocyty lze také stanovit pomocí hematologického analyzátoru (přístroj Sysmex XE-5 000), který v rámci vyšetření krevního obrazu umožňuje měřit mladé destičky jako parametr **IPF (Immature platelet fraction)** [7].

Retikulotrombocyty jsou stanoveny jako IPF% (procentuální zastoupení retikulotrombocytů v celkovém počtu krevních destiček) nebo jako jejich absolutní počet.

IPF je měřeno v retikulocytárním (fluorescenčním) kanálu analyzátoru metodou průtokové cytometrie, používají se barviva polymetin a oxazin [8] (obr. 1).

Referenční rozmezí IPF% bylo stanoveno týmem A. Takamiho na 0,5–5,7 % [9], Briggs et al [8] stanovili referenční rozmezí na 1,1–6,1 % z celkového počtu trombocytů.



Obr. 1. IPF je měřeno v retikulocytárním (fluorescenčním) kanálu analyzátoru metodou průtokové cytometrie, používají se barviva polymetin a oxazin.

Bylo zjištěno, že je-li vzorek pro stanovení IPF skladován při pokojové teplotě, jeho hodnota se po dobu 48 hod nemění [7]. Není vhodné skladovat materiál při 4 °C, neboť dochází k umělému zvyšování hodnoty IPF o téměř 200% za 24 hod [10].

Využití IPF v laboratorní diagnostice

Parametr IPF lze využít při diagnostice a sledování řady převážně hematologických onemocnění.

Nejčastěji byla studována jeho využitelnost při **diferenciální diagnostice trombocytopenií** [7,11]. Dále bylo IPF zkoumáno jako marker nastupující trombopoézy po cytotoxických chemoterapiích a po transplantacích hematopoetických kmenových buněk [8,9]. Byl studován i význam retikulotrombocytů u pacientů s diagnózou myelodysplastický syndrom (MDS) [6].

IPF a diferenciální diagnostika trombocytopenií

Stanovení retikulovaných destiček pomáhá odlišit trombocytopenie způsobené sníženou produkcí krevních destiček od trombocytopenií způsobených jejich zvýšenou konzumpcí nebo destrukcí (tab.1).

Snížená produkce trombocytů je nejčastěji důsledkem nedostatečnosti kostní dřeně způsobené např. nežádoucími účinky léků, radioterapií či

Tab. 1.

1. Nemoci se selháním produkce trombocytů

A. pancytopenie

- aplastická anémie
- akutní leukemie
- myelodysplastický syndrom
- megaloblastová anémie
- metastáze do kostní dřeně
- poléková trombocytopenie atd.

B. izolovaná trombocytopenie

- amegakaryocytová trombocytopenie

2. Nemoci se zkráceným přežitím trombocytů

A. imunologická destrukce

- idiopatická trombocytopenická purpura
- poléková trombocytopenie

B. zvýšená spotřeba

- trombotická trombocytopenická purpura
- disseminovaná intravaskulární koagulopatie
- hemolyticko-uremický syndrom
- masivní krvácení atd.

C. abnormální distribuce

- hemangiom
- slezina atd.

IPF % v normálním rozmezí

zvýšené IPF %

chemoterapií. V tomto případě nedochází ani při výrazné trombocytopenii ke zvýšení IPF% mimo normální rozmezí.

Zvýšená spotřeba trombocytů je pozorována např. při krvácení, trombotické trombocytopenické purpře (TTP) nebo při hemolyticko-uremickém syndromu (HUS). Aby byla kompenzována tato nadměrná ztráta destiček, narůstá aktivita kostní dřeně a megakaryocyty tvoří vyšší množství trombocytů. Tento jev lze zaznamenat jako zvýšenou hodnotu IPF% zjištěnou při vyšetření krevního obrazu. Je-li však onemocnění způsobující tuto konzumpci účinně léčeno, dochází k poklesu IPF% současně s nárůstem počtu trombocytů v periferní krvi [7].

Lze tedy shrnout, že **dřeňový útlum nevede ke zvýšení hodnoty IPF%, kdežto nadměrná konzumpce nebo destrukce destiček může být provázena zvýšením IPF%.**

IPF a transfuze krevních destiček

Po chemoterapii či transplantaci kostní dřeně trvá nějakou dobu, než dojde k obnově trombopoézy. Než dojde k navrácení produkce krevních destiček na potřebnou úroveň, může se pacient ocitnout v těžké trombocytopenii pod $10 \times 10^9/l$. Aby nedošlo k spontánnímu krvácení, připadá v úvahu profylaktická transfuze trombocytů.

Několik výzkumných týmů nezávisle na sobě pozorovalo, že dochází-li k obnovení trombopoézy, je **nárůst počtu destiček ohlašován 1–4 dny dopředu zvýšením IPF%** mimo normální rozmezí [7–9].

Tato skutečnost by mohla pomoci lékaři při rozhodnutí, zda u pacienta, který je afebrilní a nekrvácí, podat transfuzi trombocytů, nebo zda počkat, až počet destiček stoupne samovolně.

IPF a MDS

Někteří pacienti s MDS vykazují zvýšení IPF%, aniž by trpěli silnou trombocytopenií. Tato skutečnost je pravděpodobně způsobena dystrombopézou.

U všech pacientů z této skupiny byly zjištěny chromozomální abnormality, včetně monozomie či abnormalit chromozomu 7 nebo delece 5q [6].

Stavy ovlivňující stanovení a hodnoty IPF

Bylo zjištěno, že **sepsa** či **infekce** zvyšuje u pacienta IPF% bez následného nastoupání počtu trombocytů [8,12].

Falešně pozitivní nárůst IPF byl pozorován i u **kuřáků** a **pacientů s diabetem** [13].

Závěr

Frakce mladých destiček – IPF je nový hematologický parametr, který lze jed-

noduše a levně měřit jako součást krevního obrazu. Má mnoho potenciálních využití, převážně v diagnostice trombocytopenií a sledování kinetiky trombocytů. V budoucnu budou jistě odhaleny nové souvislosti mezi IPF a diagnostikou či léčbou dalších i nehematologických onemocnění.

Literatura

1. Harrison P. Platelet development. *Sysmex Journal Intern* 2007; 2: 73–80.
2. Doporučení České hematologické společnosti (www.hematology.cz)
3. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3339–3347.
4. Ingram M., Coopersmith A. Reticulated platelets following acute blood loss. *Br J Haematol* 1969; 17: 225–229.
5. Kienast J, Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. *Blood* 1990; 75: 116–121.
6. Sugimori N, Kondo Y, Shibayama M et al. Aberrant increase in the immature platelet fraction in patients with myelodysplastic syndrome: a marker of karyotypic abnormalities associated with poor prognosis. *Eur J Haematol* 2008; 82: 54–60.
7. Briggs C, Kunka S, Hart D et al. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2004; 126: 93–99.
8. Briggs C, Hart D, Kunka S et al. Immature platelet fraction measurement: a future guide to platelet transfusion requirement after hematopoietic stem cell transplantation. *Trans Med* 2006; 16: 101–109.
9. Takami A, Shibayama M, Orito M et al. Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 501–507.
10. Osei-Bimpong A. The effect of storage on the clinical utility of the immature platelet fraction. *Hematology* 2009; 14: 118–121.
11. Abe Y, Wada H, Tomatsu H et al. A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Tromb Res* 2006; 118: 463–469.
12. Zucker ML, Murphy CA, Rachel JM et al. Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation. *Lab Haematol* 2006; 12: 125–130.
13. Grove EL, Hvas AM, Kristensen SD. Immature platelets in patients with acute coronary syndromes. *Tromb Haemost* 2009; 101: 151–156.
14. Saigo K, Sakota Y, Masuda Y et al. Clinical utility of new parameters provided by Sysmex XE-2100 RET Channel. *Sysmex Journal Intern* 2007; 17: 81–94.

Mgr. Markéta Ryzí

www.fnsipo.cz

e-mail: marketa.ryzi@fnsipo.cz

Doručeno do redakce: 30. 4. 2010

www.csnn.eu