

# Ocena przydatności diagnostycznej badania retykuloerytrocytów u chorych z pierwotną małopłytkowością immunologiczną

## Evaluation of diagnostic value of reticulated platelet testing in patients with primary immune thrombocytopenia

Krystyna Maślanka<sup>1</sup>, Anna Sikorska<sup>2</sup>, Andrzej Misiak<sup>3</sup>, Agnieszka Wróbel<sup>1</sup>, Halina Michur<sup>1</sup>, Monika Prochorec-Sobieszek<sup>4</sup>, Patrycja Łopacz<sup>1</sup>, Ewa Brojer<sup>1</sup>

Instytut Hematologii i Transfuzjologii

<sup>1</sup>Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej

<sup>2</sup>Klinika Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych

<sup>3</sup>Klinika Chirurgii Ogólnej i Hematologicznej

<sup>4</sup>Zakład Diagnostyki Hematologicznej

### Streszczenie

**Wstęp:** Podstawowym kryterium rozpoznania pierwotnej małopłytkowości immunologicznej (ITP) jest zmniejszona ( $< 100 \times 10^9/l$ ) liczba płytek krwi przy braku innych przyczyn małopłytkowości. W rozpoznaniu ITP pomocna może być zwiększona liczba megakariocytów w szpiku. Biopsja szpiku jest procedurą inwazyjną, więc ocena aktywności megakariocytów poprzez badanie retykuloerytrocytów (RP) wydaje się być użyteczną techniką diagnostyczną ITP.

Celem pracy była ocena przydatności badania RP u chorych z ITP.

**Materiał i metody:** Retykuloerytrocyty zbadano u 56 chorych z ITP. Liczba płytek krwi przed leczeniem wynosiła  $27,5 \pm 15,8 \times 10^9/l$ . Leczonych tylko farmakologicznie było 26 chorych, a splenektomii poddano 30 chorych. Okres obserwacji chorych wynosił 1–3 lata. Leczenie uznawano za skuteczne, gdy liczba płytek krwi osiągnęła wartość powyżej  $50 \times 10^9/l$ .

Retykuloerytrocyty izolowano z bogatoerytrocytowego osocza, utrwalano 1% paraformaldehydem i znakowano przeciwciałem monoklonalnym anty CD41-PE i oranżem tiazolu. Odsetek RP oceniano w cytometrze przepływowym. W porównaniu z wartościami RP u zdrowych osób ( $1,3 \pm \pm 0,8\%$ ; zakres: 0,5–6%) za zwiększony odsetek RP uznawano wartości powyżej 10%.

**Wyniki:** Odsetek RP u chorych przed leczeniem wynosił średnio 18,5% i był istotnie wyższy niż u osób zdrowych. Podczas leczenia farmakologicznego zaobserwowano, że u 11 chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie, odsetek RP ulegał zmniejszeniu ( $8,8 \pm 7,4\%$ ), co korelowało ze wzrostem liczby płytek krwi ( $123,8 \pm 72,7 \times 10^9/l$ ). U 15 chorych, u których takie leczenie było nieskuteczne, odsetek RP pozostawał nadal zwiększony ( $24,7 \pm 20,6\%$ ), a liczba płytek krwi była niższa niż  $50 \times 10^9/l$ .

Spośród 30 chorych, w ciągu 3–5 dni po splenektomii, u 29 liczba płytek krwi wzrosła (średnia  $307 \pm 170 \times 10^9/l$ ), a odsetek RP pozostawał zwiększony ( $16,9 \pm 7,8\%$ ). U 1 chorego nie uzyskano wzrostu liczby płytek krwi i odsetek RP był nadal wysoki. Spośród 15 chorych, którzy

zgłosili się na ponowne badania, u 12 liczba płytek krwi oraz odsetek RP były w granicach normy, natomiast u 3 osób RP były nadal zwiększone, a liczba płytek nie przekraczała  $30 \times 10^9/l$ .

**Wnioski:** Zwiększony odsetek RP korelujący ze zmniejszoną liczbą płytek krwi potwierdza kliniczną diagnozę ITP. Badanie RP może być dodatkowym parametrem oceny skuteczności leczenia ITP.

**Słowa kluczowe:** pierwotna małopłytkowość immunologiczna, retikulopłytki, przydatność badania retikulopłytek

*J. Transf. Med. 2011; 4: 159–165*

## Summary

**Background:** The basic criterion for primary immune thrombocytopenia (ITP) diagnosis is decreased platelet count ( $< 100 \times 10^9/l$ ) with no other causes for thrombocytopenia. Elevated megakaryocyte count in bone marrow is a helpful parameter for ITP recognition. As bone marrow biopsy is an invasive procedure the evaluation of megakaryocyte activity through examination of reticulated platelets (RP) seems to be a better diagnostic option.

The aim of the study was to assess the diagnostic value of RP tests in ITP patients.

**Material and methods:** Reticulated platelets were tested in 56 ITP patients. The mean platelet count before treatment was  $27.5 \pm 15.8 \times 10^9/l$ . In this group of patients 26 were treated only pharmacologically and 30 were subjected to splenectomy. The monitoring period was 1–3 years. Treatment was considered satisfactory when platelet count exceeded  $50 \times 10^9/l$ .

Reticulated platelets were isolated from platelet-rich plasma and fixed in 1% paraformaldehyde, then stained with anti CD41-PE monoclonal antibody and thiazole orange. The RP values were evaluated in flow cytometer. The RP values in ITP patients were compared to RP values for healthy donors (1.3%, range: 0.5–6%). Values above 10% were considered elevated.

**Results:** The RP percentage prior to treatment was 18.5% (significantly higher than in healthy donors). In the course of pharmacological regime we observed a decrease of RP percentage in 11 patients ( $8.8 \pm 7.4\%$ ) responsive to treatment which correlated with the increase of platelet count ( $123.8 \pm 72.7 \times 10^9/l$ ). In 15 other patients unresponsive to such treatment, the percentage of RP remained elevated ( $24.7\% \pm 20.6\%$ ) and platelet counts were  $< 50 \times 10^9/l$ .

In 29 of the 30 splenectomy patients, platelet counts were observed to increase (mean;  $307 \pm 170 \times 10^9/l$ ) on days 3–5 following surgery while the RP percentage remained elevated ( $16.9 \pm 7.8\%$ ). In 1 splenectomy patient the platelet count did not increase and the RP percentage remained high. In 12 of the 15 patients who reported for control visits after splenectomy the percentage of RP was still elevated and platelet counts did not exceed  $30 \times 10^9/l$ .

**Conclusions:** The clinical ITP diagnosis is confirmed by the elevated RP values which correlate with lower platelet counts. Reticulated platelets investigation is an additional parameter of effective ITP treatment.

**Key words:** primary immune thrombocytopenia, reticulated platelet, usefulness of reticulated platelet testing

*J. Transf. Med. 2011; 4: 159–165*

## Wstęp

Pierwotna małopłytkowość immunologiczna (*primary immune thrombocytopenia*, ITP) dotychczas znana jako samoistna plamica małopłytkowa (*idio-*

*pathic thrombocytopenic purpura*, ITP), może być spowodowana obecnością przeciwciał przeciwplateletowych, które niszczą płytki we krwi obwodowej i/lub hamują tworzenie płytek przez megakariocyty. Przeciwciała przeciwplateletowe (związane z autologicznymi

mi płytkami i/lub w surowicy) są wykrywane u 30–50% chorych z ITP [1, 2]. Obecnie wiadomo, że patogenezę ITP jest bardziej złożona, ponieważ w powstawaniu małopłytkowości zaangażowane są nie tylko mechanizmy odpowiedzi immunologicznej humoralnej, ale także komórkowej [3–6].

Podstawą rozpoznania ITP jest małopłytkowość przebiegająca ze zmniejszeniem liczby płytek krwi obwodowej do wartości poniżej  $100 \times 10^9/l$ , przy braku znanych czynników wywołujących małopłytkowość lub zaburzeń przebiegających z małopłytkowością. Chorzy z ITP mają prawidłową lub zwiększoną liczbę megakariocytów w szpiku. Badanie szpiku jest jednak metodą inwazyjną i w związku z tym zaczęto poszukiwać metody, która mogłaby ją zastąpić [7–9]. Ostatnio Provan i wsp. [10] zalecają ograniczenia badania szpiku i wykonywanie go tylko u osób powyżej 60. roku życia, w celu wykluczenia zespołów mielodysplastycznych.

W roku 1990 Kienast i Schmitz [11] po raz pierwszy opublikowali doniesienie o diagnostycznym znaczeniu cytometrycznej analizy retykuloerytrocytów (RP, *reticulated platelets*), czyli najmłodszej postaci płytek krwi, które zawierają szczątkowe ilości matrycowego kwasu rybonukleinowego (mRNA, *messenger ribonucleic acid*). W związku ze złożoną patogenezą ITP brakuje jednoznacznej opinii co do użyteczności badania RP u tych chorych [7–9].

W obecnej pracy oceniano użyteczność badania RP w diagnozowaniu ITP oraz w ocenie skuteczności leczenia.

## Materiał i metody

Badania RP wykonano u 56 chorych (37 kobiet, 19 mężczyzn), u których rozpoznano ITP. Średnia wieku wyniosła 47 lat (zakres 18–84 lat). Liczba płytek krwi przed leczeniem wynosiła  $27,5 \pm 15,8 \times 10^9/l$ ; zakres  $1–46 \times 10^9/l$ . Chorych podzielono na 2 grupy: leczonych tylko farmakologicznie (26 osób) i chorych, u których wykonano splenektomię (30 osób). Spośród 30 chorych splenektomizowanych metodą laparoskopową, u 25 ten zabieg chirurgiczny był wykonany metodą klasyczną (przez 3 lub 4 trokary), a u 5 z jednego cięcia przez pępek (*SILS, single incision laparoscopic surgery*).

Spośród chorych leczonych farmakologicznie 26 otrzymało leczenie kortykosteroidami — głównie pulsy z deksamenu ( $40 \text{ mg/d/i.v.}$  przez 4 dni), 4 leczono immunosupresyjnie, w tym 2 winkrystyną ( $2 \text{ mg/d/i.v.}$  co 2 dni, 7 pulsów) i 2 cyklofosfamidem ( $1 \text{ g/d/i.v.}$  co 2 tyg. — 5 pulsów lub co 4 tyg. — 3 pulsy), 1 osoba była leczona eltrombopagiem (agonista receptora trombopoetyny). Przed splenektomią wszyscy chorzy byli leczeni kortykosteroidami, a 8 osób dodatkowo otrzymało wlewy *i.v.* Ig w celu uzyskania liczby płytek powyżej  $50 \times 10^9/l$ . Za zadowalający efekt zastosowanego leczenia uznawano liczbę płytek krwi powyżej  $50 \times 10^9/l$ . W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę badanych chorych.

Badania RP wykonywano przed leczeniem oraz 2 razy w tygodniu w czasie prowadzonego leczenia.

**Tabela 1.** Charakterystyka chorych z samoistną plamicą małopłytkową (ITP) leczonych farmakologicznie i splenektomią

**Table 1.** Characteristics of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) patients treated pharmacologically and by splenectomy

Leczenie	Liczba chorych	Płeć (K/M)	Średni wiek (zakres)	Megakariocyty	Przeciwciała (klasa Ig)	
					Na płytkach	W surowicy
Farmakologiczne	26	16/10	53 (20–84)	17 obecne 9 nb	10 IgG 1 IgM 12 brak 3 nb	26 brak przeciwciał
Splenektomia	30	21/9	41 (21–68)	22 obecne 8 nb	4 IgG 2 IgM 1 IgG+IgM 20 brak 3 nb I	2 anty-glikoproteiny Ib/IIIa 25 brak przeciwciał 3 nb

nb — nie badano

Łącznie wykonano około 500 badań RP, od 3–10 dla każdego chorego. Okres obserwacji chorych wynosił od 1–3 lat.

Izolację i oznaczanie RP wykonano zgodnie z procedurą podaną przez Kienasta i Schmitza [11], w modyfikacji Michur i wsp. [12]. Krew pełną wirowano przez 10 minut przy  $550 \times 1$  g, następnie zbierano bogatopłytkowe osocze, które wirowano przy  $2500 \times 1$  g przez 10 minut. Otrzymany osad płytkowy utrwalano poprzez dodanie 1 ml 1-procentowego paraformaldehydu (Sigma, Saint Louis, Stany Zjednoczone) i inkubację w temperaturze pokojowej (ok.  $22^{\circ}\text{C}$ ) przez 60 minut. Retykulopłytki różnicowano, stosując podwójne znakowanie — przeciwciałem monoklonalnym anti-CD41 sprzężonym z fikoerytryną (Dako, Glostrup, Dania), które swoiście wiąże się z glikoproteinami IIb/IIIa płytek krwi oraz oranżem tiazolu (RetiCount, BD Biosciences, San Jose, Stany Zjednoczone), który ma powinowactwo do mRNA. Odsetek RP oceniano w cytometrze przepływowym FACSCanto II (Becton Dickinson, San Jose, Stany Zjednoczone) w przeciągu 30 minut od zakończonej inkubacji. Analizę odczytów podwójnego barwienia RP przeprowadzano z wykorzystaniem programu FACSDiva. Badania RP u chorych analizowano w odniesieniu do odsetka RP ustalonego na podstawie wcześniejszych badań RP wykonanych u 148 zdrowych osób, który wynosił średnio  $1,3 \pm 0,8\%$ ; zakres od 0,5–6% [13]. W obecnej pracy za zwiększone wartości RP przyjęto odsetek RP powyżej 10%.

Przeciwciała przeciw płytkowe związane z płytkami badano testem immunofluorescencyjnym (PIFT, *platelet immunofluorescence test*) według Borne'a i wsp. [14] z użyciem wieloswoistej surowicy króliczej skierowanej przeciwko ludzkim immunoglobulinom IgG, IgM, IgA, sprzężonej z FITC (Jackson ImmunoResearch, West Grove, Stany Zjednoczone). Badania oceniano w cytometrze przepływowym FACSCanto II. Wyniki przyjmowano za dodatnie, gdy odsetek komórek wykazujących fluorescencję był wyższy niż 10%. Przeciwciała w surowicy (skierowane do glikoprotein błonowych płytek krwi — IIb/IIIa, Ib, Ia/IIa) badano testem immunoenzymatycznym (MAIPA, *monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens*) według Kiefela i wsp. [15] z użyciem przeciwciał monoklonalnych anti-CD41, CD42, CD49 (Immunotech, Marsylia, Francja) oraz króliczej surowicy antyglobulinowej anti-IgG sprzężonej z peroksydazą (Jackson ImmunoResearch, West Grove, Stany Zjednoczone). Badania oceniano w spektrofotometrze przy długości fali 492 nm. Wartość ekstynkcji powyżej 0,200 uznawano za wynik dodatni.

Liczbę megakariocytów w szpiku oceniano mikroskopowo w komorze Nageotta według Harkera i wsp. [16]. Prawidłowa liczba megakariocytów w szpiku to 6–50 komórek/1 ml szpiku.

### Analiza statystyczna

Wyniki badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu *t*-Studenta, oceny regresji liniowej oraz współczynnika korelacji Pearsona.

### Wyniki i omówienie

U wszystkich chorych podstawą rozpoznania ITP była izolowana małopłytkowość (liczba płytek krwi  $< 100 \times 10^9/l$ ) i wykluczenie innych stanów lub chorób, w przebiegu których występuje małopłytkowość. U 39/56 (70%) chorych wykonano badania megakariocytów w szpiku i wykazano prawidłową lub zwiększoną liczbę płytkotwórczych megakariocytów (tab. 1).

Przed leczeniem u wszystkich badanych chorych z ITP odsetek RP wynosił średnio 18,5% (zakres: 1,4–34%) i był istotnie statystycznie wyższy od wartości RP u zdrowych osób ( $p < 0,001$ ). W świetle tych danych zwiększony odsetek RP u chorych z ITP wskazuje na wzmożoną aktywność megakariocytów związaną z obwodowym niszczeniem płytek krwi i może być dodatkowym parametrem potwierdzającym tę jednostkę chorobową. Do takich samych wniosków doszli także Monteagudo i wsp. [17] oraz Diquatro i wsp. [18].

Należy podkreślić, że badania RP są szczególnie ważne u chorych, u których nie bada się megakariocytów w szpiku, a zwłaszcza w przypadkach, kiedy lekarz ma trudności z postawieniem właściwego rozpoznania ITP.

W tabeli 2 przedstawiono zależność odsetka RP od liczby płytek krwi przed i po leczeniu chorych farmakologicznie i splenektomią. W czasie leczenia farmakologicznego zaobserwowano, że u 11 chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie, odsetek RP zmniejszył się ( $8,8 \pm 7,4\%$ ), co korelowało ze wzrostem liczby płytek krwi ( $123,8 \pm 72,7 \times 10^9/l$ ) — ujemny współczynnik korelacji Pearsona.

Na rycinie 1 przedstawiono przykład opisanej wyżej korelacji RP i liczby płytek krwi u chorej efektywnie leczonej farmakologicznie (enkortonem, solumedrolem, winkrystyną, imuranem). Po zastosowaniu takiego leczenia odsetek RP wzrósł do ponad 40%, ale liczba płytek krwi w tym okresie pozostawała poniżej  $10 \times 10^9/l$ . Jednak już po 2 dniach liczba płytek zaczęła wzrastać, a odsetek RP zaczął zmniejszać się do wartości normy. Natomiast na rycinie 2 przedstawiono drugi przykład korelacji pomiędzy liczbą płytek krwi i RP u chorej

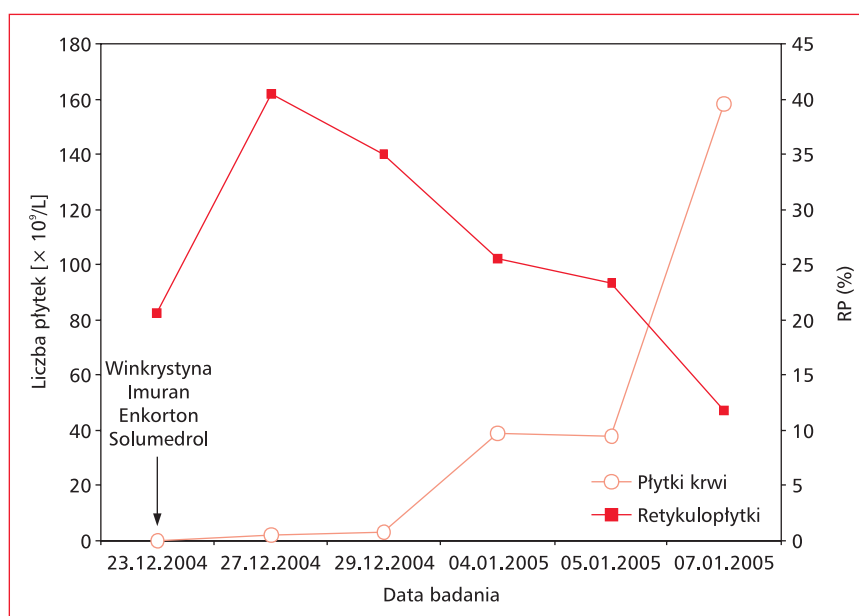
**Tabela 2.** Zależność pomiędzy liczbą płytek krwi i odsetkiem retykulołytek (RP) przed i po leczeniu chorych z samoistną plamicą małopłytkową**Table 2.** Correlation between platelet count and reticulated platelet (RP) percentage in idiopathic thrombocytopenic purpura patients before and after treatment

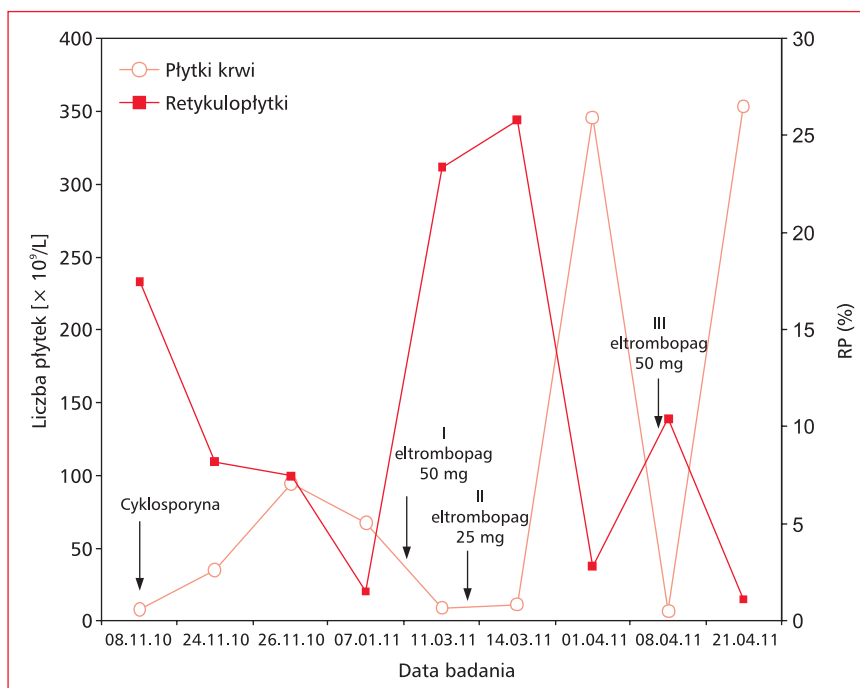
Leczenie	Liczba chorych	Płytki krwi ( $\times 10^9/l$ )		RP (%)	
		Przed leczeniem	Po leczeniu	Przed leczeniem	Po leczeniu
Farmakologiczne					
Skuteczne	11	$30,1 \pm 21,4$	$123,8 \pm 72,7$	$14,8 \pm 13,2$	$8,8 \pm 7,4$
Nieskuteczne	15	$10,8 \pm 10,2$	$22,5 \pm 11,5$	$24 \pm 2,8$	$24,7 \pm 20,6$
Splenektomia *					
Skuteczna	29	$78,9 \pm 29,8$	$307,8 \pm 170$	$16,7 \pm 8,9$	$14,5 \pm 7,8$
Nieskuteczna	1	29	33,2	28	27

\*liczba płytek krwi i % RP: przed splenektomią (po leczeniu kortykosteroidami i/lub *i.v.lg*), po leczeniu (splenektomii) — po 1–4 dniach

opornej na leczenie farmakologiczne, której podawano lek nowej generacji — eltrombopag. Chora z ITP, ze zmniejszoną liczbą płytek krwi ( $8 \times 10^9/l$ ) i zwiększonym odsetkiem RP (18%), była początkowo leczona cyklosporyną, co w efekcie pozwoliło na krótkotrwały (około 2-miesięczny) wzrost liczby płytek krwi do  $50\text{--}100 \times 10^9/l$ , korelujący z wartościami RP w granicach normy. W okresie, gdy liczba płytek krwi zaczęła się zmniejszać, podano pierwszą dawkę eltrombopagu (50 mg) i już w następnym dniu odsetek RP wzrósł do 23–25%, gdy

tymczasem liczba płytek krwi pozostawała nadal na niskim poziomie ( $9\text{--}11 \times 10^9/l$ ). Podano drugą dawkę eltrombopagu (25 mg) i liczba płytek wzrosła po 4 dniach do  $270\text{--}356 \times 10^9/l$ , a odsetek RP obniżył się do 2,8%. Po około 3 tygodniach od ostatniej dawki leku liczba płytek krwi ponownie uległa obniżeniu do wartości poniżej  $10 \times 10^9/l$ , co korelowało ze zwiększeniem odsetka RP do 11% i podano 3. dawkę leku (50 mg). Opisane wcześniej przykłady leczenia farmakologicznego i analiza zależności pomiędzy liczbą płytek krwi i odsetkiem RP wska-

**Rycina 1.** Zależność liczby płytek krwi od odsetka retykulołytek (RP) u chorej leczonej farmakologicznie (przykład 1)**Figure 1.** Correlation between platelet count and reticulated platelet (RP) percentage in pharmacologically treated patient (sample 1)



**Rycina 2.** Zależność liczby płytek krwi od odsetka retykulopłytek (RP) u chorej leczonej farmakologicznie (przykład 2)

**Figure 2.** Correlation between platelet count and reticulated platelet (RP) percentage in pharmacologically treated patient (sample 2)

zują na użyteczność badania RP, które obrazuje pobudzenie trombopojezy u obserwowanej chorej po podaniu leku. O takiej korelacji donoszą także Thomas-Kaskel i wsp. [19].

U 15 chorych, u których leczenie farmakologiczne było nieskuteczne, odsetek RP pozostawał zwiększony ( $24,7 \pm 20,6\%$ ) przez cały okres obserwacji, a liczba płytek krwi nie przekraczała wartości  $50 \times 10^9/l$  (śr.  $22,3 \pm 11,5 \times 10^9/l$ ).

Pomimo opisanej wyżej zależności pomiędzy liczbą płytek krwi i odsetkiem RP, przed i po leczeniu chorych z ITP, analiza regresji liniowej pomiędzy tymi parametrami u osób skutecznie leczonych farmakologicznie, w porównaniu z chorymi, którzy nie odpowiedzieli na takie leczenie, nie wykazała różnicy istotnej statystycznie. Wobec tego, na podstawie wartości RP nie można przewidzieć efektu końcowego skuteczności takiej terapii. Być może wynika to z małej liczby badanych osób (tylko 11 chorych), u których terapia farmakologiczna była skuteczna. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że badanie RP u chorych z ITP leczonych farmakologicznie pozwala lekarzowi ocenić aktywność megakariocytów i umożliwia regulowanie dawek podawanego leku, ponieważ wzrost odsetka RP poprzedza o 2–4 dni wzrost liczby płytek krwi. Ilustruje to zwłaszcza drugi przykład (ryc. 2). Opisane badania

potwierdzają wcześniejsze podobne doniesienie [14]. Wydaje się, że obserwacja podwyższonego odsetka RP u chorych z ITP może być także użyteczna w planowaniu profilaktycznych przetoczeń płytek krwi u osób bez krwawienia.

Spośród 30 chorych poddanych splenektomii, w ciągu 3–5 dni po zabiegu, u 29 liczba płytek krwi wzrastała średnio do  $307,8 \pm 170 \times 10^9/l$ , a odsetek RP pozostawał nadal podwyższony — średnio  $14,5 \pm 7,8\%$ . U 1 chorego po splenektomii nie uzyskano zadawalającego wzrostu liczby płytek krwi ( $33,2 \times 10^9/l$ ) i odsetek RP był znacznie wyższy (27%) (tab. 2). Po 1–3 latach po zabiegu, spośród 15 chorych, którzy zgłosili się na ponowne badania, u 12 liczba płytek krwi, jak i odsetek RP były w granicach normy, natomiast u 3 osób odsetek RP był nadal zwiększony, a liczba płytek krwi nie przekraczała  $30 \times 10^9/l$ . W tej grupie chorych splenektomizowanych potwierdziła się zależność pomiędzy liczbą płytek krwi, a odsetkiem RP obserwowana w grupie chorych leczonych farmakologicznie.

U niektórych chorych z ITP leczonych tylko farmakologicznie, jak i splenektomizowanych wykrywano przeciwciała związane z płytkami krwi i/lub w surowicy (tab. 1). Autoprzeciwciała przeciw-płytkowe wykryto u 6/11 chorych skutecznie leczo-

nych farmakologicznie, natomiast u chorych, u których taka terapia była nieskuteczna, przeciwciała wykryto tylko u 3/15 osób. Te badania, mimo że przeprowadzone wśród niewielkiej grupy osób, potwierdzają obserwacje Sikorskiej i wsp. [1], że chory z ITP, u których wykrywano przeciwciała przeciw płytkowe, są bardziej podatni na leczenie kortykosteroidami. Prawdopodobnie jest to związane z immunosupresyjnym działaniem kortykosteroidów. W obecnej pracy badania przeciwciał przeciw płytkowych wykonywano na ogół jednorazowo i dlatego w tej grupie chorych z ITP nie było możliwości zaobserwowania ewentualnego zaniku przeciwciał po skutecznym leczeniu kortykosteroidami.

Ocena przydatności badania RP u chorych z ITP w kontekście przebiegu choroby, a zwłaszcza skuteczności leczenia jest niezwykle trudna, ponieważ, mimo że istnieją standardy postępowania [20], każdy chory jest traktowany indywidualnie.

### Wnioski

Zwiększony odsetek RP (> 10%) występujący jednocześnie z obniżoną liczbą płytek krwi potwierdza u chorych kliniczną diagnozę ITP.

Badanie RP może być dodatkowym parametrem oceny skuteczności leczenia u pacjentów z ITP, ponieważ u chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie kortykosteroidami lub splenektomię, zaobserwowano zmniejszanie odsetka RP do wartości prawidłowych, korelujące ze wzrostem liczby płytek krwi powyżej  $50 \times 10^9/l$ .

### Piśmiennictwo

- Sikorska A., Konopka L., Maślanka K. The effect of platelet autoantibodies on the course of the disease and clinical response of patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int. Lab. Hem.* 2008; 30: 58–64.
- McMillan R., Wang L., Tomer A. i wsp. Suppression of *in vitro* megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult patients with chronic ITP. *Blood* 2004; 103: 1364–1369.
- Stasi R., Evangelista M.L., Stiopa E. i wsp. Idiopathic thrombocytopenic purpura: Current concepts in pathophysiology and management. *Thromb. Haemost.* 2008; 99: 4–13.
- Podolak-Dawidziak M. Patogeneza immunologicznej plamicy małopłytkowej. *Acta Haematol. Pol.* 2009; 40: 837–842.
- Semple J.W., Provan D., Garvey M.B., Freedmann J. Recent progress in understanding the pathogenesis of immune thrombocytopenia. *Curr. Opin. Hematol.* 2010; 17: 590–595.
- Zhang F., Chu X., Wang L. i wsp. Cell-mediated lysis of autologous platelet in chronic thrombocytopenic purpura. *Eur. J. Haematol.* 2006; 76: 427–431.
- Kurata Y., Hayashi S., Kiyoi T. i wsp. Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycofibrin and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Hematopathology* 2001; 115: 656–664.
- Osei-Bimpong A. The effect of storage on the clinical utility of the immature platelet fraction. *Hematology* 2009; 14: 118–121.
- Macchi L., Chamlian V., Sadoun A. i wsp. Comparison of reticulated platelet count and mean platelet volume determination in the evaluation of bone marrow recovery after aplastic chemotherapy. *Eur. J. Haematol.* 2002; 69: 152–157.
- Provan D., Stasi R., Newland A.C., Blanchette V.S., Bolton-Maggs P., Bussel J.B. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010; 115: 168–186.
- 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.
- Michur H., Maślanka K., Szczepiński A., Mariańska B. Reticulated platelets as a marker of platelet recovery after allogeneic stem cell transplantation. *Int. Lab. Hem.* 2008; 30: 519–525.
- Karandys J., Siwik D., Maślanka K. Badanie retykulopłytek — normy hematologiczne oraz wahania liczby retykulopłytek w czasie. *J. Transf. Med.* 2011; 4: 123–128.
- Borne A.E.G.K., Verheugt T.W.A., Oosterhof F. i wsp. A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Br. J. Haematol.* 1976; 39: 195–207.
- Kiefel V., Santoso S., Weisheit M. i wsp. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA) a new tool for the identification of platelet antibodies. *Blood* 1987; 70: 1723–1726.
- Harker L.A., Finch E.A. Thrombokinosis in man. *J. Clin. Invest.* 1969; 48: 963–968.
- Monteagudo M., Amengual M.J., Munoz L., Soler J.A., Roig I. Reticulated platelets as a screening test to identify thrombocytopenia aetiology. *Q. J. Med.* 2008; 101: 549–555.
- Diquatro M., Gagliano F., Calabro G.M. i wsp. Relationship between platelet counts, platelet volumes and reticulated platelets in patients with ITP: evidence for significant platelet count inaccuracies with conventional instrument methods. *Int. Lab. Hem.* 2009; 31: 199–206.
- Thomas-Kaskel A.K., Mattern D., Kohler G., Finke J., Behringer D. Reticulated platelet counts correlate with treatment response in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and help identify the complex causes of thrombocytopenia in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cytometry* 2007; 72: 241–248.
- Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T. i wsp. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009; 113: 2386–239.