

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra biologických a biochemických věd

Netrombotické funkce krevních destiček

Kateřina Vanclová

Bakalářská práce

2020

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Department of Biological and Biochemical Sciences

Non-thrombotic roles of blood platelets

Kateřina Vanclová

Bachelor Thesis

2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina Vanclová**
Osobní číslo: **C16292**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Netrombotické funkce krevních destiček**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- 1) Vypracujte literární rešerši o netrombotických funkcích krevních destiček. V první části textu bakalářské práce se zaměřte na vznik krevních destiček, charakterizujte jejich morfologii a popište jejich jednotlivé vnitřní struktury. Stručně také definujte úlohu krevních destiček v procesu hemostázy a podrobněji se pak zaměřte na popis trombocytárních funkcí, které nejsou v přímé souvislosti se zástavou krvácení.
- 2) Další části práce věnujte popisu role krevních destiček v podpoře imunitní odpovědi organismu. Zdůrazněte zejména jejich úlohu při zánětlivých reakcích a infekcích. V hlavní části práce shrňte, jak a s jakými významnými složkami imunitního systému jsou trombocyty schopny spolupracovat a komunikovat při imunitních reakcích.
- 3) Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *Science-Direct*, *Web of Science*, *Scopus*, *apod.*

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jiří Handl**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019, Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 25. 05. 2020

Kateřina Vanclová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala především svému vedoucímu bakalářské práce Mgr. Jiřímu Handlovi, za jeho ochotu, trpělivost a vstřícnost při psaní této práce. Velice si cením všech jeho odborných rad a konzultací, které mi dopomohly práci dokončit. Také chci poděkovat mé rodině a přátelům, kteří ve mě po celou dobu studia věřili a vždy mě plně podporovali.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je zaměřena na popis netrombotických funkcí krevních destiček. Charakterizována je zejména úloha krevních destiček, jakožto nepostradatelné součásti lidského imunitního systému. V úvodní části práce je popsán vznik krevních destiček a obecné funkce, včetně jejich hlavní úlohy, kterou je účast na hemokoagulaci a tvorbě primárního trombu. Dále je shrnuta struktura krevních destiček a charakterizována základní funkce imunitního systému, včetně specifických imunitních funkcí. Popsány jsou základní složky imunitního systému, jejich rozdělení a mechanismy jejich působení. Závěrečná část bakalářské práce je věnována konkrétnímu zapojení krevních destiček do imunitní odpovědi organismu a jejich uplatnění v rámci vybraných onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

hemokoagulace, krevní destičky, povrchové receptory, granula krevních destiček, imunitní systém

TITLE

Non-thrombotic roles of blood platelets

ANNOTATION

This bachelor thesis is focused on the description of non-thrombotic functions of blood platelets. The main role of platelets, as an indispensable part of the human immune system, is characterized in particular. In the introduction chapter of the thesis, there is described platelets origin and general functions, including their main role, which is participation on hemostasis process and primary thrombus formation. In the next chapter, the structure of immune system and specific functions are summarized. All basic parts of immune system are characterized. It is described their division to groups and their operation mechanisms. The last part of the bachelor thesis is devoted to the specific involvement of platelets in the immune response of the organism, and also to the specific role in selected diseases.

KEYWORDS

Hemostasis, Blood platelets, Surface receptors, Platelet granules, Immune system

OBSAH

	ÚVOD	13
1	Krevní destičky	14
1.1	Megakaryocyty	14
1.2	Trombopoéza	15
1.3	Morfologie krevních destiček	16
1.4	Granula krevních destiček	17
1.4.1	α -granula	17
1.4.1.1	P-selektin	18
1.4.1.2	Chemokiny	18
1.4.2	Denzní granula	19
1.4.3	Lysozomální granula.....	19
1.5	Úloha krevních destiček v procesu hemostázy	20
1.5.1	Adheze	21
1.5.2	Aktivace	22
1.5.3	Agregace	25
2	Imunitní systém	27
2.1	Vrozená imunita a její mechanismus	29
2.2	Adaptivní imunita a její mechanismus.....	31
2.2.1	Receptory B a T-lymfocytů	32
2.2.2	Aktivace adaptivních mechanismů	33
3	Role krevních destiček v imunitních reakcích	34
3.1	Aktivace krevních destiček v případě imunitních reakcí a jejich receptory	34
3.2	Uplatnění krevních destiček v imunitním systému.....	36
3.2.1	Imunitní odpovědi vrozené imunity v kooperaci s krevními destičkami.....	38
3.2.2	Imunitní odpovědi adaptivní imunity v kooperaci s krevními destičkami	42
4	Role krevních destiček u vybraných typů onemocnění	44
4.1	Malárie	44
4.2	Maligní nádorová onemocnění	45
4.3	HIV+	47
4.4	Stafylokoková infekce	49
5	ZÁVĚR	50
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	51

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Vznik krevních destiček (upraveno dle Thomas, 2019).....	16
Obr. 2: Stavba krevní destičky (upraveno dle Beards, 2012).....	17
Obr. 3: Přehled činnosti krevních destiček za hemostázy (upraveno dle Shaz, 2018).....	20
Obr. 4: Shluk aktivovaných krevních destiček v plasmě (Kunkel, 2018).....	24
Obr. 5: Změny tvaru krevní destičky v průběhu procesu aktivace (Thomas, 2019).....	25
Obr. 6: Schema působení imunitního systému (upraveno dle Abbas, 2018).....	29
Obr. 7: Přehled jednotlivých drah mechanismu působení lipidových raftů (upraveno dle Izquierdo, 2019).....	36
Obr. 8: Schéma aktivace krevní destičky (upraveno dle Deppermann, 2018).....	38
Obr. 9: Schéma imunitních mediátorů odvozených od krevních destiček (upraveno dle Morrel, 2014).....	40
Obr. 10: Interakce destiček a sinusoid hepatocytů při infekci způsobené bakterií Plasmodium berghei (Morrel, 2014).....	41
Obr. 11: Schematický přehled metastatické kaskády se zaměřením na destičky (upraveno dle Schlesinger, 2018).....	47
Obr. 12: Ultrastrukturální snímek krevní destičky pacienta s AIDS a trombocytopenií (Youssefian, 2002).....	49

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled destičkových proteinů působících na udržení rovnováhy cytoskeletu a na jeho přeskupování (upraveno dle Colman, 2006).....	23
Tabulka 2: Přehled funkcí vrozené a získané imunity (upraveno dle Abbas, 2018).....	28
Tabulka 3: Shrnutí hlavních funkcí krevních destiček, které se podílejí na průběhu zánětu a imunitní odpovědi (upraveno dle Thomas, 2015).....	37

SEZNAM ZKRATEK

ABP-280	filamin A
ADP	adenosindifosfát
AIDS	syndrom získané imunodeficiencie
APC	antigen prezentující buňka
APR	odpověď akutní fáze
ATP	adenosintrifosfát
Bcl-2, Bcl-3	lymfoidní protein B-lymfocytů č. 2 a 3
BCR	receptor B-lymfocytů
CLEC-2	lektinový receptor typu C
COL	trojitá helikální doména
COX-1, COX-2	konstitutivní a indukibilní forma Cyklooxygenázy
CRP	C reaktivní protein
DAMP	molekulární vzory spojené s poškozením
EMCV	virus encefalomyokarditidy
FcR	receptor krystalizovatelných fragmentů
FcR γ	γ řetězec receptoru Fc
GEM, GEMs	membránové mikrodomény obohacené o glykolipidy
GP	glykoprotein
HIV	virus lidské imunodeficiencie
HSC	hematopoetická kmenová buňka
IFN γ	interferon γ
IgM, IgD, IgA, IgE, IgG, Ig α , Ig β	imunoglobulin typu M, D, A, E, G, α , β
IL-3, IL-4, IL-5, IL6, IL-11, IL-17, IL-22	interleukin 3, 4, 5, 6, 11, 17, 22
ILC buňka	přirozená lymfoidní buňka
ITAM	imunoreceptorový aktivační motiv založený na tyrosinu
JAM	spojovací adhezní molekula
LAT	linker aktivace T-lymfocytů
LPS	lipopolysacharid
Mac-1	makrofágový integrin α M β 2
MBP	manózu vázající protein

MHC	hlavní histokompatibilní komplex
MIP-1a	makrofágový zánětlivý protein-1a
miRNA	mikroRNA
MP, MPs	mikročástice
MPO	myeloperoxidáza
MRSA	Staphylococcus aureus rezistentní na Methicillin
NC	nekolagenová helikální doména
NET, NETs	neutrofilová extracelulární past
NK buňka	přírodně zabíjející buňky
PAMP	molekulární vzory spojené s patogeny
PF4	destičkový faktor č. 4
PMP	mikročástice uvolněná z krevní destičky
PRR	receptor rozpoznávající vzory
PSGL1	P-selektin glykol protein
RANTES	„ <i>Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted</i> “ chemokiny
ROI	kyslíkový reaktivní intermediát
ROS	reaktivní formy kyslíku
SAA	sériový amyloidový protein A
SAP	sériový amyloidový protein P
TCR	receptor T-lymfocytů
TF	tkáňový faktor
TIR	toll/IL-1 receptorová doména
TLR	toll like receptor
TNF α	tumor nekrotizující faktor α
Tpo	trombopoetin
TxA2	tromboxan A2
VRSA	Staphylococcus aureus rezistentní na Vancomycin
VTE	venózní tromboembolismus
vWF	von Willebrandův faktor

ÚVOD

Krevní destičky jsou všeobecně známé jako krevní elementy, které se podílejí na hemostáze a tvorbě trombů. Stále častěji se však setkáváme s novými poznatky, které objasňují významnou roli krevních destiček při zánětlivých stavech a formování imunitní odpovědi organismu. Řada studií prokázala, že krevní destičky ovlivňují různé typy zánětlivých stavů od aterosklerózy po infekční onemocnění, kterým je například malárie. Tento nově známý fakt činí z krevních destiček nejpočetnější typ imunitních buněk, které cirkulují v oběhovém systému. Mechanismus působení je možný jak přímým kontaktním způsobem, kdy mají krevní destičky například schopnost aktivně pohlcovat patogeny nebo nepřímým způsobem, při kterém dochází ke stimulaci imunitních mechanismů na základě mediátorů uvolněných z destiček. V rámci vzájemné interakce se zánětlivými buňkami mají krevní destičky schopnost podpořit tvorbu zánětlivé reakce. Těmto imunitním funkcím krevních destiček je přisuzována důležitost stejné míry, jako v případě hemostázy.

Hlavním cílem této bakalářské práce je zejména shrnout a popsat nejvýznamnější mechanismy působení krevních destiček v imunitních reakcích a zároveň charakterizovat průběh některých onemocnění, u kterých se tyto mechanismy mohou uplatnit.

1 Krevní destičky

Krevní destičky neboli trombocyty jsou bezjaderné krevní elementy. Ačkoliv se jedná pouze o útržky a úlomky megakaryocytů, nesou velmi důležité vlastnosti, které hrají zásadní roli nejen v koagulačním systému. V současné době jsou studovány nové souvislosti týkající se úlohy krevních destiček při fyziologických reakcích imunitního systému. Bylo prokázáno, že se trombocyty mohou účastnit imunitních reakcí, podílet se na odpovědi organismu na zánět či infekci a také se zapojit do procesů doprovázejících nádorové změny (Thomas, 2019).

1.1 Megakaryocyty

Krevní destičky, stejně jako ostatní krevní elementy, vznikají v kostní dřeni (Hartwig, 1991). Konkrétně jsou tvořeny z megakaryocytů, které jsou vysoce specializovanými buňkami kostní dřeně. Zároveň se jedná o největší buňky kostní dřeně a jejich jádro je polyploidní (Thomas, 2019). Velikost megakaryocytů se pohybuje mezi 40-60 μm . Prekurzorovými buňkami pro megakaryocyty jsou megakaryoblasty, které vznikají odvozením od hematopoetických kmenových buněk. Proces jejich vývoje se nazývá megakaryocytopoéza a je stimulován pomocí jaterního glykoproteinu trombopoetinu, který se řadí mezi růstové faktory (Italiano Jr., 2003). Na počátku ontogeneze megakaryocytů jsou monocytární prekurzory poháněny cytokiny. Mezi ně řadíme molekuly trombopoetinu (Tpo), které umožňují následnou endomitózu a znásobení buněčného jádra. V důsledku tohoto procesu dochází k rozšíření počtu chromozomálních sad. Tento cytokin je hlavním regulátorem vývoje megakaryocytů a zároveň je také přímým regulátorem tvorby krevních destiček. Tpo vzniká v játrech a také ve stromatu kostní dřeně. Mezi další regulátory můžeme také zařadit interleukin 3 (IL-3), IL-6, IL-11 a ligand typu C-kit (Italiano Jr., 2003).

Megakaryocyty za svůj buněčný život podstoupí mnohonásobný proces endomitózy. Po dokončení dochází k rychlé cytoplasmatické expanzi polyploidních megakaryocytů. Endomitózou se všeobecně rozumí proces, při kterém dochází k replikaci buněčné genetické informace, avšak nedochází k rozdělení buněk a cytoplasmy. Tímto způsobem vznikají mnohojaderné buňky (Thomas, 2019). Maturace megakaryocytů vede k akumulaci charakteristických cytoplasmatických složek, destičkových proteinů, organel a demarkačního membránového systému, což je rozvětvená síť membránových kanálků složených ze zploštělých zásobníků a tubulů. Při dozrávání megakaryocytů dochází k vysunutí výběžků plasmatické membrány do sinusoid kostní dřeně a k následnému odštěpování

cytoplasmatických fragmentů. Z jednoho megakaryocyty vznikne tímto procesem až 5000 krevních destiček (Italiano Jr., 2003).

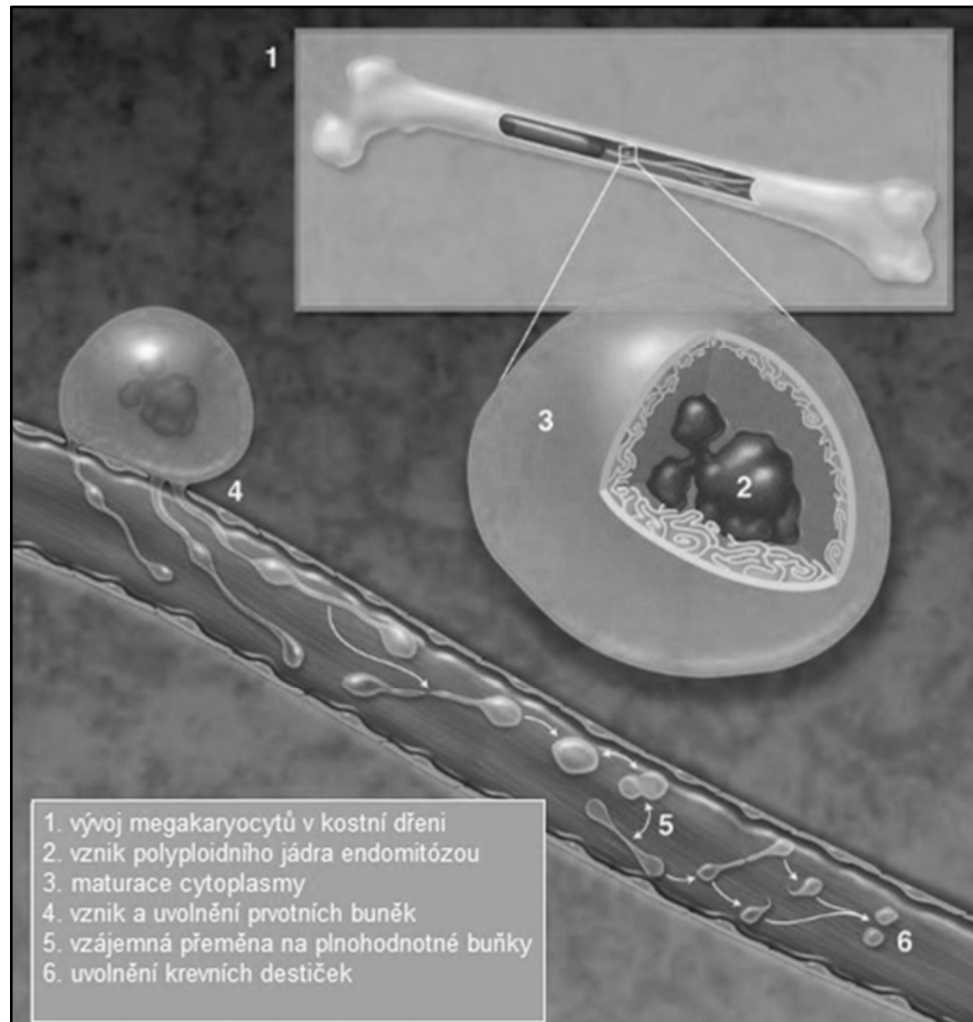
1.2 Trombopoéza

Jako trombopoéza je označován proces vzniku krevních destiček. Z poznatků získaných elektronovou mikroskopií je známo, že vzniku krevních destiček předchází takzvané pučení. Na povrchu megakaryocytů se v průběhu diferenciaci objevují dlouhá, velice rozvětvená „*proplateleta*“, která představují prvotní přechodnou formu budoucích krevních destiček (Thon, 2012). Jsou to zpočátku silná polyploidní vlákna, která se protahují do tenkých tubulů o průměru 2-4 μm . Po celé délce jsou rozdělena na různě kondenzované úseky, které se pravidelně opakují (Italiano Jr., 2003). Na jejich koncích se vyskytují tzv. pupeny („*blebs*“), které vznikly vyvitím periferní cytoplasmy (Thomas, 2019). Jednotlivá jádra jsou obklopena spletitou sítí vyvíjejících se fragmentů. Rychlými stahy jsou oddělovány jednotlivé řetězce a krátké fragmenty z buněčného těla (Italiano Jr., 2003). Rozštěpením těchto fragmentů vznikají částice ve tvaru činky. Ty jsou následně dále štěpeny na dvě samostatné části. Velice často však dochází k jejich následnému opětovnému spojení s jinými mladými fragmenty nebo s již zralými trombocyty. Díky tomu pak mohou vzniknout útvary větší, než je fyziologicky obvyklé. Nález velkého množství krevních destiček v nadprůměrné velikosti je označován jako makrotrombocytopenie. Její původ může být jak vrozený, tak i získaný (Thon, 2012).

Z důvodu nestandardního průběhu vývoje a uvolňování krevních destiček je tento jev často srovnáván s programovanou buněčnou smrtí apoptózou. Formování destiček vykazuje charakteristické rysy, které předcházejí právě apoptóze, hovoříme zde o reorganizaci cytoskeletu a cytoplasmy, kondenzaci buněčné membrány a zvlnění buněčného povrchu. Tyto podobnosti vedou k zamyšlení, zda není apoptóza primární hnací silou tvorby „*proplatelet*“. V současné době je známo, že apoptóza odpovídá za destrukci jader v megakaryocytech. Zároveň je známo, že její vliv je silnější ve zralých megakaryocytech než v nezralých buňkách. V megakaryocytech se vyskytují proapoptotické faktory jako jsou kaspázy a oxid dusnatý, ale zároveň i další proapoptotické faktory například „*B-cell lymphoma (Bcl)*“ proteiny jako jsou Bcl-2 a Bcl-x₁. Vnitřní i vnější apoptotické cesty se zapojují do produkce krevních destiček, tento proces je označován jako „*para-apoptóza*“ (Thomas, 2019).

Hlavním rysem trombopoézy je biogeneze sekrečních granul. Nejhojněji se u krevních destiček vyskytují α -granula a denzní granula. Oba typy mají původ v Golgiho aparátu a jsou

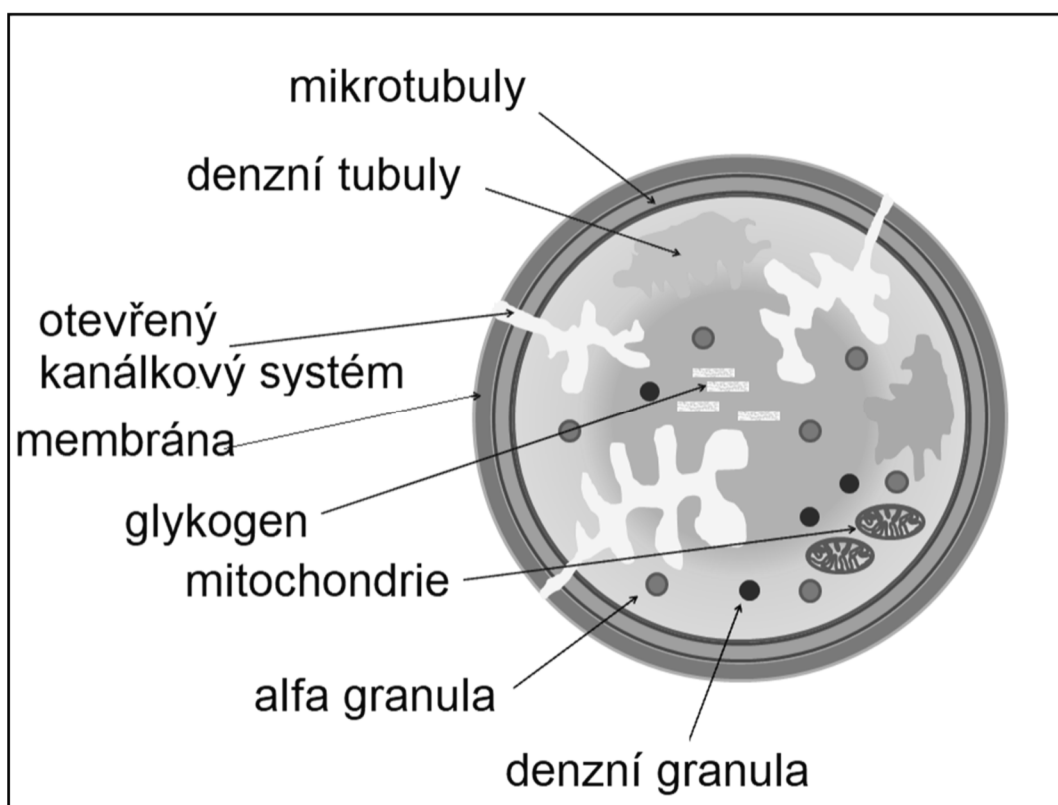
přítomny v megakaryocytech již od jejich raných stádií. Svůj specifický obsah, popsáný v následujících kapitolách, získávají při endogenní syntéze a při pinocytóze (Italiano Jr., 2003). Celý proces vzniku krevních destiček je zjednodušeně popsán na obrázku 1.



Obr. 1: Vznik krevních destiček (upraveno dle Thomas, 2019)

1.3 Morfologie krevních destiček

Krevní destičky jsou bezjaderné, a proto je řadíme podobně jako červené krvinky mezi tzv. neúplné buňky. Membrána krevních destiček je silně citlivá na mnoho faktorů, které ovlivňují metabolické procesy a aktivační děje v buňce. Tvar krevních destiček je různorodý a proměnlivý podle stupně aktivace. Při pozorování elektronovým mikroskopem rozlišujeme některé mikrostruktury, jako jsou granula či denzní tělíska, otevřený kanálkový systém, mitochondrie, mikrotubuly, denzní tubulární systém a další organely (Obr. 2).



Obr. 2: Stavba krevní destičky (upraveno dle Beards, 2012)

1.4 Granula krevních destiček

Biogeneze granul krevních destiček je hlavní funkcí při trombopoéze (Italiano Jr., 2003). Látky obsažené v destičkových granulách se uplatňují při vazokonstrikci, hemokoagulaci a následném hojení ran. Díky tomu jsou nedílnou podporou krevních destiček při zánětlivých stavech. Aktivují také sekreci velkého množství protizánětlivých mediátorů, které mají odlišnou roli, jež plní hemostáza. Setkáváme se se třemi základními typy granul, která se zásadně liší svým složením (Crowford, 2011).

1.4.1 *α-granula*

Destičková α -granula obsahují řadu proteinů, které jsou uvolňovány během jejich aktivace a mají vliv na vznik trombu, hemostázu, zánětlivé procesy, aterosklerózu a obranyschopnost hostitele. Na jednu krevní destičku připadá přibližně 50-80 α -granul. Jejich velikost se pohybuje mezi 200-500 nm v průměru. Jsou charakteristická hustým centrálním jádrem v jemně granulované matrix (Italiano Jr., 2003). Jejich obsah je tvořený membránově vázanými proteiny, které jsou exprimovány na povrchu nebo uvolněny při aktivaci. Z proteinů, které jsou vázány na povrchu, se většina vyskytuje na membráně již v klidové

fázi, zatímco jiné, jako například adhezní molekuly P-selektinu, jsou exprimovány bezprostředně před aktivací (Thomas, 2015). Tato granula mají významnou roli v přirozené imunitě. Většinou se podílí na expresi adhezních receptorů destiček, které následně přímo interagují s leukocyty nebo uvolňují cytokiny, které leukocytární funkci ovlivní. Obsahují destičkový glykoprotein von Willebrandův faktor (vWF), chemokiny jako jsou CXCL1, faktor destiček 4 (PF4; také známý jako CXCL4), CXCL5, CXCL7, interleukin-8 (IL-8, také známý jako CXCL8), CXCL12, makrofágový zánětlivý protein-1a (MIP-1a, také známý jako CCL3) a RANTES („*Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted*“, také známý jako CCL5), koagulační faktory, destičkový glykoproteinový růstový faktor PDGF, homodimerní proteiny TGF- β , P-selektin, fibrinogen a glykoproteiny fibronektiny (Blair, 2009).

Původ α -granul je v Golgiho aparátu. Vyskytují se v místě zrání megakaryocytů již od jejich raných stádií. Svůj obsah získávají na základě kombinace endogenní syntézy a absorpce složek plasmy. Proces je zprostředkován receptory aktivovanou endocytózou a pinocytózou (Italiano Jr., 2003).

1.4.1.1 P-selektin

P-selektin je mediátor odvozený od α -granul. Jeho hlavní funkcí je usadit vazbu a adhezi leukocytů k endotelu po aktivaci krevních destiček. Densní těla indukují vazokonstrikci, produkci protizánětlivých cytokinů a modulaci zánětu (Jenne C. N., 2013). Při adhezi k endotelu pak hraje klíčovou roli serotonin (Coppinger, 2007). Bylo prokázáno, že nárůst počtu neutrofilů je způsobený právě serotoninem z akutních zánětů (Duerschmied, 2013). Hlavní funkcí je zprostředkování vazby při procesu adheze. Důležitou roli hraje také v zánětů zprostředkovaném krevními destičkami. P-selektin interaguje s molekulami, které exprimují P-selektin glykol protein (PSGL1) jako jsou například neutrofilů, monocytů, dendritické buňky, endotelové buňky a jiné aktivované krevní destičky (Sonmez, 2017).

1.4.1.2 Chemokiny

Granula trombocytů obsahují chemokiny produkované megakaryocyty. Druh RANTES, také známý jako chemokin ligandu 5, patří do skupiny CC chemokinů. Je to protein, který je kódován genem CCL5. Při vazbě monocytů na endotel pomocí P-selektinu dochází k vyvolání uvolňování buněk RANTES odvozených od trombocytů. Zároveň se snižuje počet monocytů v krevním oběhu. RANTES buňky zvyšují cytotoxickou schopnost

pomocných T-lymfocytů CD8 a tvorbu cytokinů v těchto buňkách (Crowford, 2011). RANTES a srážecí faktory trombocytů PF4 zvyšují účinnost monocytů.

Krevní destičky jsou nezbytné pro cílení lymfocytů, neutrofilů a monocytů do místa zánětu. Peptid, odvozený od chemokinu se nazývá „*Trombocidin*“. Je to antibakteriální a antifungální látka uložená v α -granulech a uvolňuje se na základě aktivace trombinem (Krijgsveld, 2000).

1.4.2 Denzní granula

Denzní granula jsou elementy velké v průměru 200-300 nm. Obsahují vysoké množství serotoninu, který má podpůrnou funkci pro směřování neutrofilů do místa akutního zánětu (Sonmez, 2017). Charakteristická jsou čirým halo efektem obklopujícím jádro, které je neprůhledné (Italiano Jr., 2003). Obsahují malé molekuly neproteinového původu, které mají důležitou roli při amplifikaci odezev krevních destiček. Do této skupiny náleží Ca^{2+} , Mg^{2+} , nukleotidy ADP a ATP, serotonin a histamin (Coppinger, 2007). Ionty spadající do této skupiny ovlivňují transdukcí signálu při akutním zánětu (Sonmez, 2017). Původ denzních granul je obdobný jako u α -granul.

1.4.3 Lysozomální granula

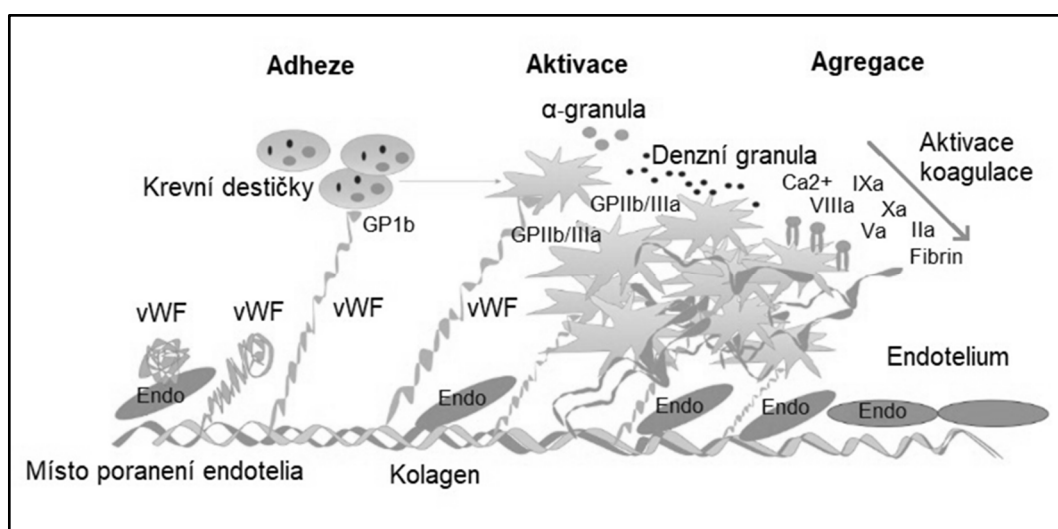
Mezi lysozomální granula krevních destiček řadíme glykohydrolázu, proteázy – katepsin, kyselá fosfatázy, kolagenázu, elastázu a proteiny, které mají baktericidní účinky (Sonmez, 2017). Kyselá fosfatáza (ACP) je enzym fosfatázy, který je zásadní při sledování několika chorob jako jsou rakovina prostaty, akutní lymfoblastická leukémie a další. Bylo zjištěno, že ACP, na rozdíl od alkalické fosfatázy (ALP), katalyzuje dopamin jako nový substrát pro polydopamin v kyselých nebo neutrálních podmínkách. Toho lze využít při stanovení ACP pomocí fluorescenčních uhlíkových teček (Chen, 2019). Kolagenáza patří do skupiny proteáz. Je to látka, která vzniká v lidském organismu při zánětlivých stavech, nebo může být produkována mikroorganismy. Tato látka je schopná hydrolyzovat nativní kolagen, základní látku mezibuněčné hmoty, za běžných fyziologických podmínek (Appel, 1974). Katepsin je enzym, který má schopnost nescificky štěpit mikroorganismy. Tato funkce tento enzym staví do pozice obránce imunity první linie (Sonmez, 2017).

1.5 Úloha krevních destiček v procesu hemostázy

Krevní destičky hrají nezbytnou úlohu v procesu zástavy krvácení. Díky jejich činnosti je lze považovat za samostatnou hemostatickou jednotku (Trojan, 2003). Schematicky jsou tyto na sebe navazující procesy, které vedou k postupné tvorbě primárního trombu, popsány na obrázku 3. Krevní destičky fungují jako buněčný mediátor a to tak, že vytvářejí a vylučují adhezní molekuly, které podporují akumulaci dalších trombocytů v postižených oblastech. Tyto adhezní molekuly dále podporují přilnutí destiček k leukocytům a granulocytům (Morrell, 2014).

Hemostázou se rozumí proces, který chrání organismus před fatálními ztrátami krve a zabraňuje případnému vykrvácení. Celý proces hemostázy se skládá z několika dílčích kroků, které na sebe přímo navazují a zároveň jsou velmi významně provázány:

- I. Vazokonstrikce: reakce cév v místě poranění
- II. Působení trombocytů
- III. Hemokoagulace: reakce plasmatických faktorů, tvorba fibrinových vláken a definitivního trombu
- IV. Hojení rány: fibrinolýza, působení fibroblastů a buněk hladké svaloviny (Trojan, 2003)



Obr. 3: Přehled činnosti krevních destiček za hemostázy (upraveno dle Shaz, 2018)

1.5.1 Adheze

Adheze krevních destiček v místě poranění cév je zprostředkovaná interakcí konstitučně exprimovaných receptorů na povrchu destiček společně s exponovanými proteiny subendoteliální matrix. Hlavní roli v procesu adheze hraje von Willebrandův faktor společně s kolagenem. Další složky matrix, které mají schopnost zprostředkovat adhezi jsou fibronektiny, lamininy, vitronektiny a trombospondiny (Colman, 2006). Von Willebrandův faktor je látka patřící do skupiny subendoteliálních glykoproteinů. Jeho struktura se skládá ze stejných 250 kDa podjednotek spojených disulfidickými můstky do multimerů, které mohou být delší než 20 000 kDa (Sadler, 1998). Syntéza von Willebrandova faktoru probíhá na endoteliálních buňkách a na megakaryocytech. Zde je produkován jako jednořetězcový pre-pro-protein. Ten se skládá z 22-aminokyselinového signálního peptidu, 741-aminokyselinového propeptidu a podjednotky o délce 2050 aminokyselin (Rauch, 2013). Von Willebrandův faktor je také nositelem destičkového faktoru VIII, tato interakce je nezbytná pro přežití faktoru VIII v krevním řečišti (Sadler, 1998). Působením von Willebrandova faktoru dochází k směřování a transportu krevních destiček do místa poranění endoteliální a subendoteliální matrix, která obsahuje velkým množstvím kolagenu a dalších extracelulárních matrix proteinů (Shaz, 2018). Kolagen je látka, která také patří do skupiny subendoteliálních proteinů. Vyznačuje se vláknitou strukturou, která se vyskytuje v subendotelu (Trojan, 2003). Strukturně se jedná o molekuly složené ze tří polypeptidových α -řetězců, které obsahují pravidelně se opakující sekvenci (n-krát G-X-Y), kde se vyskytuje prolin a hydroxyprolin. Tato pravidelná opakování umožňují tvorbu trojitě šroubovice, která je pro skupinu kolagenů charakteristická. Každý člen této skupiny kolagenů obsahuje ve své struktuře alespoň jednu trojitou helikální doménu (COL), která je uvolňována a následně uložena do extracelulární matrix. Kromě COL domény kolageny obsahují také „*non-triple helical*“ doménu (NC) ta slouží jako stavební materiál pro další extracelulární proteiny (Karsdal, 2019).

Doména von Willebrandova faktoru A3 se nejprve váže na subendoteliální kolagen. Tento proces indukuje rozvinutí von Willebrandova faktoru a vystavuje doménu A1 k vazbě na GPIb-V-IX receptor krevních destiček (GP1b). Vazba destičkového glykoproteinu GPIb na kolagenem vázaný von Willebrandův faktor ukotvuje a adheruje destičky v místě poranění. Krevní destičky obsahují i další glykoproteiny, které se přímo vážou na kolageny, a to včetně glykoproteinu Ia/IIa a glykoproteinu VI. Signalizace prostřednictvím těchto glykoproteinů, adhezních proteinů a rozpustných ligandů indukuje aktivaci z intracelulárního kompartmentu, tento proces se označuje jako „*inside-out*“ aktivace. Protein, který podléhá

aktivaci „*inside-out*“ je glykoprotein IIb/IIIa. Fosforylací jeho cytoplasmatické domény indukuje změny v extracelulární doméně. Tento proces vede ke zvýšené afinitě k von Willebrandově faktoru a také k fibrinogenu. Tyto adhezi vyvolané změny signalizují počátek další fáze, kterou je aktivace (Shaz, 2018). Adhezní molekuly jsou vylučovány z α -granul a hrají důležitou roli při tvorbě trombu. Hlavním zástupcem této skupiny je P-selektin. Kromě základních funkcí, které jsou spojeny se zánětem zprostředkovaným destičkami a interakcí s molekulami exprimujícími PSGL1 má P-selektin další důležitou funkci. Během buněčné adheze dochází prostřednictvím P-selektinu k regulaci genomové exprese v leukocytech (Sonmez, 2017).

1.5.2 Aktivace

Krevní destičky v důsledku reakce na daný podnět procházejí proměnou podle charakteristického vzorce. Aktivované destičky ztrácí svůj charakteristický kulovitý tvar. Na základě působení kontraktilních proteinů (Tab. 1) a přestavby cytoskeletu se stávají elementem nepravidelného tvaru. Začínají se u nich vytvářet četné, dlouhé, tenké filopodie. Tyto útvary jsou pozorovatelné na snímcích z elektronového mikroskopu (Obr. 4) (Herter, 2014).

Tabulka 1: Přehled destičkových proteinů působících na udržení rovnováhy cytoskeletu a na jeho přeskupování (upraveno dle Colman, 2006)

Proteiny cytoskeletu	Proteiny asociované cytoskeletem	Membránové receptory	Signální proteiny	Regulátory aktinové polymerizace
Aktin	Filamin A (ABP-280)	GP Ib/IX	pp60 ^{c-src}	Cdc42, Rac1, RhoA
Myosin α-aktinin	Spektrin Talin Vinkulin Ankyrin	GP IIb/IIIa GP VI	pp62 ^{c-yes} pp72 ^{Syk} rasGAP PI 3-K	WASp, WAVE Kontraktin Arp2/3 Gelsolin, CapZ apG
	Protein 4.1 Moesin Skelemin		PI 5-K SHP-1 MLCK ROCK PAK Calpain	Thymosin beta4 Profilin Cofilin

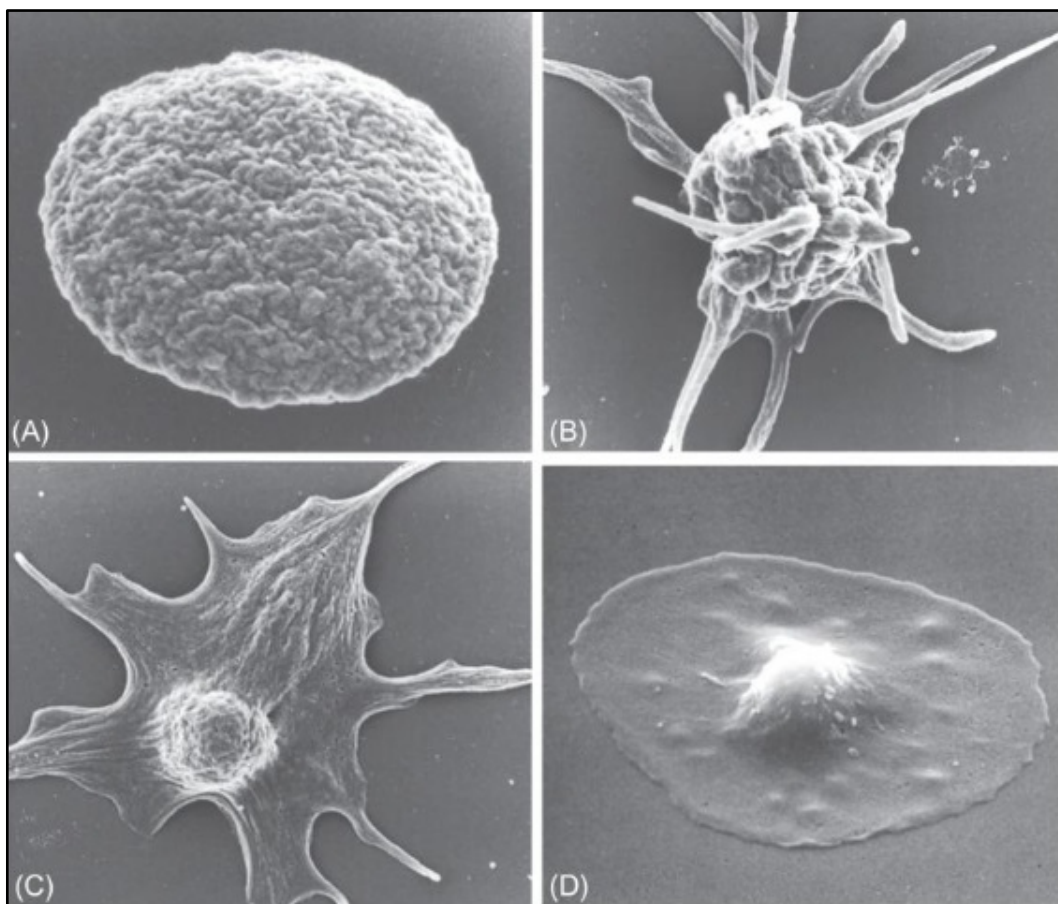


Obr. 4: Shluk aktivovaných krevních destiček v plasmě (Kunkel, 2018); ZV: 1600×

Specifický mechanismus aktivovaných krevních destiček, kdy dochází k expozici záporně nabitých iontů fosfolipidů, konkrétně fosfatidylserinu a fosfatidyletanolaminu, na povrch vnější buněčné membrány je označován jako flip-flop fenomén. Takto již aktivované krevní destičky následně slouží jako podklad pro tvorbu koagulačně aktivačních komplexů. K tomuto jevu dochází přetočením fosfolipidové dvojvrstvy cytoplasmatické membrány (Pecka, 2006).

Morfologické změny krevních destiček, které nastávají po aktivaci, jsou znázorněny na obrázcích 5A až 5D. Na obrázku. 5A je zobrazena klidová fáze krevní destičky, která má tvar disku. Jemné záhyby na povrchu plasmatické membrány jsou důležité pro rozšíření plochy membrány, tento jev je patrný před každým rozvinutím krevní destičky. Obrázek 5B zobrazuje aktivovanou krevní destičku, u níž jsou viditelná četná rozvinutá filopodia. Tyto cytoplasmatické výběžky umožňují pohyb migrujícím buňkám. K tomuto procesu dochází v raném stádiu aktivace. Na obrázku 5C je zobrazena aktivovaná krevní destička, u které dochází k formování listů lamelipodií, které vyplňují prostor mezi jednotlivými filopodii, které byly formovány již v předešlém kroku. V lamelipodiích je obsažen protein

aktin. Záhyby v buněčném těle destičky postupně mizí a destička se formuje a plně rozvíjí. (Obr. 5D). Zde je zobrazena plně rozvinutá krevní destička (Thomas, 2019).



Obr. 5: Změny tvaru krevní destičky v průběhu procesu aktivace
(Thomas, 2019)

(A) Krevní destička v klidové fázi, ZV: 30000×; (B) Aktivovaná krevní destička s filopodiemi, ZV: 13000×; (C) Formování lamelipodií, ZV: 11000×; (D) Plně rozvinutá krevní destička, ZV: 9000×

1.5.3 Agregace

Agregace je proces, který započne od změny tvaru destičky až po úplný rozpad a splnutí krevních destiček (Trojan, 2003). Při tomto ději dochází u krevních destiček k jejich zesítnění prostřednictvím dimerických molekul fibrinogenu a dalších bivalentních nebo multivalentních ligandů, jako je například vWF (Watson, 2016). Tento děj je iniciován na základě působení trombinu jakožto silného destičkového aktivátoru.

Do procesu agregace se zapojuje integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ prostřednictvím rozpustného fibrinogenu, který je mediátorem celé reakce. Proces začíná působením antagonistických

látek, které stimulují uvolnění vápenatých iontů v krevních destičkách. Tyto ionty mají aktivovat integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$, který představuje exponované receptory na povrchu cytoplasmatické membrány krevních destiček, uzpůsobené k vazbě na rozpustný fibrinogen (Islam, 2016). Tento děj je označován jako primární agregace. Další látkou jejíž molekuly vstupují do tohoto procesu je kyselina arachidonová. Její molekuly jsou metabolizované na endoperoxidy a tromboxan A₂ (TxA₂). Tyto produkty jsou vysoce labilní a mají silné agregační účinky, to znamená, že podporují vlastní shlukování krevních destiček a také podporují růst primárního trombu (Trojan, 2003). Pro docílení klidového stavu se z endotelu krevních destiček uvolňuje prostacyklin a oxid dusnatý, který inhibuje aktivační procesy a zabraňuje další agregaci. Po endoteliálním kompromisu dochází k adhezi na subendoteliální komponenty, u kterých došlo k poškození nebo prasknutí aterosklerotických plaků (Thomas, 2015).

Tvorba primárního, dočasného bílého trombu je hlavní podstatou činnosti krevních destiček. Jedná se o „zátku“, která ucpává místo krvácení, především na úrovni mikrocirkulace, to znamená v drobných cévách jako jsou kapiláry a malé venuly. Tento proces označujeme jako primární hemokoagulaci (Trojan, 2003).

2 Imunitní systém

Mezi základní homeostatické mechanismy řadíme bezpochyby právě imunitní systém lidského organismu. Jeho zásadním cílem je udržení integrity organismu. Jedná se o systém mnoha typů buněk, které jsou situované zejména do lymfoidních tkání a také orgánů. Z důvodu průniku možné infekce kdekoli v organismu, je zastoupení imunitního systému také v oběhové soustavě. Navzdory vzdálenosti a separaci mnoha buněk imunitního systému, je udržován komunikační kanál prostřednictvím uvolňování molekul jako jsou cytokiny a chemokiny (Lydyard, 2011). V rámci různorodého působení imunitního systému, se setkáváme se třemi základními funkcemi:

- **Obranyschopnost:** imunitním systémem jsou rozpoznávány škodlivé vlivy z vnějšího okolí, nastává ochrana organismu před patogenními mikroorganismy a zejména před jimi produkoványi toxiny
- **Autotolerance:** imunitním systémem jsou rozpoznávány vlastní, neškodlivé tkáně, cílem je udržování vzájemné tolerance
- **Imunitní dohled:** imunitním systémem jsou rozpoznávány vlastní buňky, které jsou ale daného času pro organismus škodlivé, dochází tak k průběžné kontrole a likvidaci starých, poškozených a mutovaných buněk

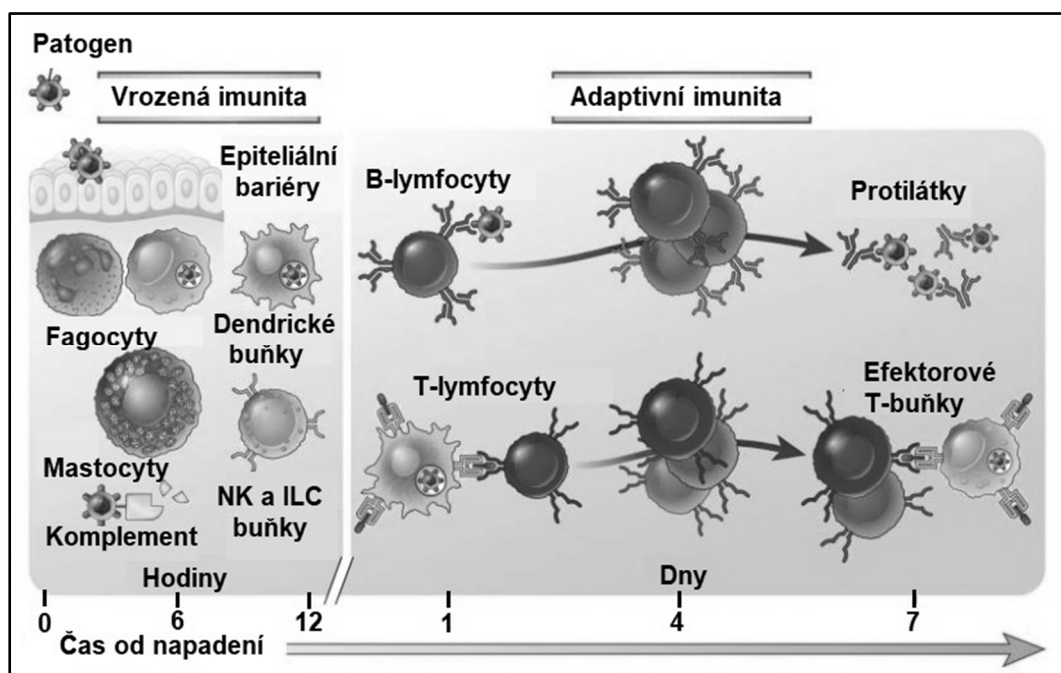
Po průniku patogenu skrz vnější linii obrany do organismu dochází ke kontaktu s buňkami imunitního systému. Do místa invaze migrují obranné molekuly imunitního systému. Rozlišujeme dvě základní skupiny buněk a molekul imunitního systému (Tab. 2). „První linií obrany“ jsou buňky vrozeného imunitního systému, které jsou v organismu přítomny již od narození a v průběhu života se téměř nemění. Jejich funkcí je prvotní likvidace patogenních molekul, jejich působením může vzniknout zánět.

Tabulka 2: Přehled funkcí vrozené a získané imunity (upraveno dle Abbas, 2018)

	VROZENÁ IMUNITA	ZÍSKANÁ IMUNITA
VLASTNOSTI		
SPOUŠTĚCÍ MECHANISMUS	Molekuly produkované příbuznými skupinami mikroorganismů a uvolňované z poškozených hostitelských buněk	Antigeny
ROZMANITOST	Omezená, rozpoznávací mechanismy jsou zakotveny v genetické informaci	Vysoká, geny kódující receptory jsou formovány rekombinací genetických segmentů v lymfocytech
PAMĚŤ	Ne nebo velmi omezená	Ano
SLOŽKY		
BUNĚČNÉ A CHEMICKÉ BARIÉRY	Kůže, mukózní epitel, antimikrobiální molekuly	Lymfocyty a epitelie protilátky produkované na povrchu epitelii
KREVNÍ PROTEINY	Komplement, lektiny, aglutininy	Protilátky
BUŇKY	Fagocyty (makrofágy, neutrofily), dendritické buňky, NK buňky, mastocyty	Lymfocyty

Druhou skupinou je adaptivní imunitní systém. Buňky jsou zaktivovány a uvedeny do činnosti ve chvíli, když zástupci vrozené imunity bojují s daným patogenem a jejich působení není zcela účinné. Mechanismus je schematicky popsán na obrázku 6. Klíčový rozdíl je v tom, že buňky adaptivního systému dokážou patogen identifikovat a zaměřit se na jeho specifickou likvidaci (Lydyard, 2011). Látky rozpoznatelné imunitním systémem, označujeme jako antigeny. Na základě jejich původu rozlišujeme exoantigeny, což jsou cizorodé látky z vnějšího okolí nebo autoantigeny, to jsou tělu vlastní látky. Imunitní systém je také schopen rozpoznávat řadu alergenů. Jedná se o specifický typ exoantigenu, který má

schopnost vyvolat u sensitivního jedince patologickou (alergickou) odpověď imunitního systému (Hořejší, 2017).



Obr. 6: Schéma působení imunitního systému (upraveno dle Abbas, 2018)

2.1 Vrozená imunita a její mechanismus

Na obraně organismu se jako první podílejí právě buňky vrozeného imunitního systému. Jejich buňky mají schopnost velice rychlé odpovědi na přítomnost charakteristických chemických struktur na mikroorganismech a poškozených buňkách, ale nemají schopnost rozpoznat tyto struktury u buněk organismu vlastních s neporušenou stavbou (Hořejší, 2017). Odpověď má velice striktní průběh, a i v případě opakování tohoto procesu probíhá vždy identicky. Receptory vrozené imunity jsou nastaveny na vnímání struktur, které jsou specifické vždy pro určitou skupinu mikroorganismů (Abbas, 2018). Tyto struktury jsou označovány jako „*Pathogen Associated Molecular Patterns*“ (PAMP). Receptory se zaměřují na endotoxiny u gramnegativních bakterií, peptidoglykany u grampozitivních bakterií, glukany a glutamany u plísní a kvasinek. Rozpoznávací mechanismy, které se zaměřují na poškozené buňky identifikují uvolněné struktury, které se označují obecně jako „*Damage Associated Molecular Patterns*“ (DAMP). Řadíme mezi ně uvolněné molekuly kyseliny močové a kyseliny nukleové, molekuly ATP a specifické intracelulární proteiny, jako jsou například protein HMGB1, kalretikulin, histony, mitochondriální proteiny a další (Hořejší, 2017). Tyto struktury se za běžných podmínek vyskytují pouze ve vnitřním prostředí buňky.

Jejich výskyt v extracelulárním prostoru značí apoptózu, nekrózu nebo narušení buněčné membrány.

Hlavními prostředky vrozené imunity jsou mechanismy fagocytózy, produkce přirozeně cytotoxických látek a vytváření chemických nebo mechanických bariér. Mezi zástupce patří antimikrobiální chemické látky, které jsou produkovány na povrchu epitelů, fagocytární buňky (neutrofilny, makrofágy), dendritické buňky, žírné buňky, „*Natural Killer*“ buňky (NK buňky), přirozené lymfoidní buňky (ILC buňky) a krevní proteiny. Ze zástupců humorální imunity řadíme do skupiny vrozené imunity komplement, přirozené protilátky a proteiny akutní fáze (Abbas, 2018).

Fagocytóza je evolučně starý jednoduchý proces, který se vyskytuje i v nejjednodušších organismech. U améboidních organismů zastává funkci pohlcování částic potravy, u složitých organismů se vyskytuje ve specializovaných buňkách a podílí se na obranyschopnosti organismu (Ardeem, 2003). Buňky zprostředkovávající proces fagocytózy označujeme jako fagocyty. Jsou pomyslným mostem mezi specifickými povrchovými antigeny a buněčnými receptory. Jmenovitě sem řadíme neutrofilní granulocyty, makrofágy, monocyty a dendritické buňky. Protože existuje celá řada fagocytárních receptorů, jsou během toho procesu aktivovány různorodé kaskády, jejich struktura je však vždy obdobná (Hirayama, 2018). Fagocytózu může rozdělit do dvou fází, kterými jsou rozpoznání a internalizace částic.

První částí je fáze rozpoznání částic. Zde dochází k rozpoznání patogenu pomocí velkého množství specifických povrchových receptorů. Tento děj je zároveň spouštěcím mechanismem vyvolávajícím fagocytózu. Dochází zde k diskriminaci rozdílů potencionálních patogenů od sebe sama, a to za využití omezeného počtu receptorů. K označení buněk pro následnou fagocytózu jsou využity vlastní povrchové receptory nebo metoda opsonizace (Ardeem, 2003).

Pro fázi internalizace částic je nezbytná aktivace signálních drah, které společně organizují celý proces. Mechanismus probíhá tak, že dochází ke kontaktu malé části povrchu buňky vrozené imunity s povrchem cizorodé částice. Částice je rozpoznána povrchovými receptory a označena k fagocytóze (Ardeem, 2003). Na základě společné kooperace dochází působením mikrotubulového a mikrofilamentového systému k přeskupení kontraktálních proteinů a přilnutí antigenu na membránu makrofágu. Celý objem cizorodé částice je posléze obklopen dlouhými pseudopodiemi fagocytu a následnému kompletnímu obklopení částice membránou fagocytu. Nově vzniklý útvar se označuje jako fagozom a je vázán na povrchovou membránu imunitní buňky. Již při tvorbě fagozomu a následně i po jeho

vzniku, dochází k velice důležité fúzi s lysozomy (Kuby, 1994), které způsobují likvidaci vybraných buněk.

2.2 Adaptivní imunita a její mechanismus

Charakteristickým rysem adaptivní imunity je paměť a specifita reakcí. Adaptivní imunita je zprostředkována lymfocyty a jejich produkty. Lymfocyty exprimují vysokorychlostní receptory, které mají schopnost rozeznávat velké množství antigenů. Rozeznáváme dva hlavní typy populací lymfocytů, a to lymfocyty T a lymfocyty B, které mají obě podobnou morfologii, ale zprostředkovávají různé typy adaptivních imunitních odpovědí na základě různých antigenních receptorů a povrchových molekul (Abbas, 2018). Nezbytnou funkcí povrchových molekul je schopnost interakce s jinými buňkami. Dochází k aktivaci schopnosti pohybu do i ze tkání, tzv. recirkulace. Jedná se o jedinečnou funkci lymfocytů migrovat do tkáně a skrze lymfatické cévy zpět do krevního řečiště (Lydyard, 2011). Jednotlivé imunitní odpovědi jsou specifické pro různé antigeny a často jsou různé pro jednotlivé části daných komplexů v molekulách proteinů, polysacharidů a dalších makromolekul (Abbas, 2018). Lymfocyty vznikají v primárních lymfoidních orgánech a následně působí v sekundárních lymfoidních orgánech. Zde rozpoznávají cizorodé antigeny a reagují na ně.

Velké množství antigenně specifických T-lymfocytů je produkováno v brzlíku z prekurzorů uvolněných z kmenových buněk v kostní dřeni. Diferenciací hematopoetických kmenových buněk (HSC) vznikají buňky B-lymfocytů a plasmatické buňky. Tento proces probíhá u nenarozeného plodu v játrech, po narození se přesouvá do kostní dřeni. V kostní dřeni prekurzory B-lymfocytů přeskupují zděděné zárodečné geny, které kódují antigenní receptory. Tento proces zapříčiní vznik mnoha B-lymfocytů s různými specifickými funkcemi, které jsou jedinečné pro určitý antigen. Následuje eliminace buněk, které reagují se sebou samými. První exprimovanou protilátkou na B-lymfocytech je imunoglobulin typu M (IgM), následnou koexpresí vzniká imunoglobulin typu D (IgD). Zralé B-lymfocyty migrují do sekundárních lymfoidních tkání, kde dochází k reakci s cizími antigeny. Po této aktivaci proliferují a dochází k dozrávání do plasmatických buněk a plnohodnotných paměťových B-lymfocytů (Lydyard, 2011).

2.2.1 Receptory B a T-lymfocytů

Části komplexu, které jsou specificky rozpoznávány lymfocyty označujeme jako determinanty nebo epitopy. Tato detailní specifita je zapříčiněna expresí membránových receptorů jednotlivých lymfocytů, které mohou rozpoznávat tyto jemné odlišnosti mezi jednotlivými epitopy (Abbas, 2018).

Receptory B-lymfocytů (BCR) jsou komplexy tvořené z antigenového povrchového imunoglobulinu a signalizačních molekul. Komplexem BCR je asociována fosforylace polypeptidů označovaných jako transmembránové proteiny imunoglobulin α (Ig α), tzv. CD79 α , a imunoglobulin β (Ig β), tzv. CD79 β , pomocí cytoplasmatických proteintyrosinkináz skupiny Src. Ig α a Ig β slouží jako signalizační molekuly pro receptory a jsou nezbytně nutné pro tvorbu a expresi imunoglobulinů (Lydyard, 2011).

Receptory T-lymfocytů jsou obdobně rozmanité jako receptory pro identifikaci protilátek. Na rozdíl od antigenových receptorů B-lymfocytů se receptory T-lymfocytů vyskytují pouze na buněčné membráně a nikoli v séru nebo jiných tělních tekutinách. Na základě funkčnosti receptory dělíme do dvou skupin $\alpha\beta$ a $\gamma\delta$ (Lydyard, 2011). Komplex receptorů T-lymfocytů (TCR) se skládá z antigenového receptoru a proteinového diméru $\alpha\beta$ nebo $\gamma\delta$. TCR dochází k asociaci na proteinový komplex CD3, který slouží pro signalizaci a rozpoznávání jednotlivých T-lymfocytů (Hořejší, 2017). CD3 je tvořen polypeptidy γ , δ , ϵ , a ζ . Tyto polypeptidy jsou esenciální složkou pro tvorbu TCR. Při rozpoznávání antigenů dochází ke spolupráci s koreceptory CD4 a CD8. Na základě přítomnosti diferenciační skupiny potí rozlišujeme skupinu CD4⁺ a CD8⁺. Skupina CD4⁺ se zaměřuje na rozpoznávání peptidů na molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) II. třídy. Při této reakci dochází k vytvoření vazby na nepolymorfni oblast MHC. V rámci této skupiny rozlišujeme různé Th typy buněk, které jsou Th1, Th2 nebo Th17 představující imunitní efekторы a T regulační buňky, které představují imunitní supresory. Th1 buňky, jsou také označovány jako zánětlivé buňky. Produkují vysoké hladiny IFN γ a TNF α , které primárně působí jako aktivátory makrofágů. Th2 buňky jsou charakteristické svou produkcí interleukinů IL-4, IL-5 a IL-6. Jejich vliv se uplatňuje při diferenciaci a zrání B-lymfocytů a jejich protilátek, zejména izotopů IgA a IgE. Th17 buňky produkují interleukiny IL-17 a IL-22. T-lymfocyty hrají důležitou roli při ochraně gastrointestinálního traktu proti mikrobiálním útokům. U skupiny CD8⁺ dochází k vazbě na nepolymorfni oblast MHC I. třídy a rozpoznávání peptidů na molekulách MHC I. třídy (Lydyard, 2011).

Klíčovým požadavkem je, aby T-lymfocyty rozlišovaly pouze antigenní peptidy, pokud jsou vázány v drážce molekuly MHC. Tímto krokem se dosáhne, že T-lymfocyty

ignorují volné extracelulární antigeny a soustředí se na již infikované buňky daným antigenem a následnou imunitní odpověď (Chaplin, 2010). MHC označuje glykoproteinové komplexy, které se nacházejí na vnější straně cytoplasmatické membrány. MHC I. třídy se fyziologicky vyskytují u všech jaderných buněk. MHC II. třídy se za běžných podmínek vyskytují u buněk, které prezentují daný antigen. Hlavní funkcí těchto glykoproteinů je vázat na sebe peptidové fragmenty (Hořejší, 2017). Při vazbě se tvoří tzv. drážka jako vazebné místo pro vazbu peptidů. Peptidy vázané na peptidy molekul MHC I. třídy jsou odvozeny od proteinů syntetizovaných v buňkách nesoucí molekuly třídy MHC I. S obdobným procesem se setkáváme i u MHC molekul II. třídy. Jedná se o antigeny, které nesou specifické proteiny II. třídy. Proteiny jsou směřovány do drážky, kde dochází k vazbě s peptidy II. třídy exogenní cestou. Exogenní cesta má na svém počátku buď endocytózu nebo fagocytózu extracelulárních proteinů (Chaplin, 2010).

2.2.2 *Aktivace adaptivních mechanismů*

Základním mechanismem antigenní specifity jsou klonální, anticipační principy. Mechanismus je založen na principu, že v organismu je uložen rozsáhlý soubor typů struktur B a T-lymfocytů, které se liší detaily ve struktuře vazebných míst. Dojde-li k invazi mikroorganismu, dojde k setkání s lymfocyty s příslušnými receptory. Na základě tohoto styku dochází k masivnímu zmnožení daného typu receptoru a tvorbě nových klonů. Tyto klony mají totožnou specifitu jako jejich matrice. Díky jejich značnému množství může následně dojít k eliminaci daného antigenu (Hořejší, 2017). Imunitní systém využívá mnoha silných efektorových mechanismů, je tedy nezbytně nutné, aby se zabránilo útokům na vlastní tkáň organismu. Dochází ke dvojí aktivaci imunitních odpovědí na základě tzv. principu druhého signálu. Tento signál je zprostředkován koreceptory a kostimulačními molekulami (Chaplin, 2010). Aktivace adaptivní imunity je úzce spjatá s aktivací imunity vrozené, zároveň má také vliv na její regulaci. Aktivace odpovědi adaptivní imunity a indukce imunitní paměti závisí na systému vrozené imunity. Hlavní roli zde hrají antigen prezentující buňky (APC), mezi které řadí dendritické buňky. Zároveň aktivací lymfocytů se projeví další následné účinky, které zapříčiní zesílení vrozených imunitních odpovědí jako je například fagocytóza a další usmrcování patogenů (Lagou, 2018).

3 Role krevních destiček v imunitních reakcích

Řada studií prokázala, že krevní destičky ovlivňují zánětlivé procesy v organismu od aterosklerózy až po infekční onemocnění, což z krevních destiček činí nejpočetněji zastoupený typ imunitních buněk, které se vyskytují v oběhové soustavě. V některých situacích se jejich imunitní funkce projevuje jako obranná, zatímco v jiných případech jsou destičky prozánětlivým markerem, kdy iniciují a urychlují vaskulární zánětlivé stavy (Morrell, 2014). Krevní destičky exprimují a vylučují adhezní molekuly, které se následně akumulují v místech, která byla poškozena. Tyto molekuly také podporují vlastní destičkovou adhezi k buňkám řady bílých krvinek a také ke granulocytům. Kromě tohoto děje krevní destičky vylučují imunitní modulátory, které mají chemotaktické účinky pro neutrofilů, monocytů a lymfocytů. Tyto vzájemné interakce vedou k tvorbě jednotlivých agregátů z krevních destiček, granulocytů a leukocytů, které mají další prozánětlivé účinky. Krevní destičky se také zapojují do procesů vrozeného imunitního systému, protože mají schopnost vychytávat a pohlcovat určité typy mikrobů. Zároveň zabraňují dalšímu šíření bakterií v organismu tvorbou koagulátů (Sonmez, 2017).

3.1 Aktivace krevních destiček v případě imunitních reakcí

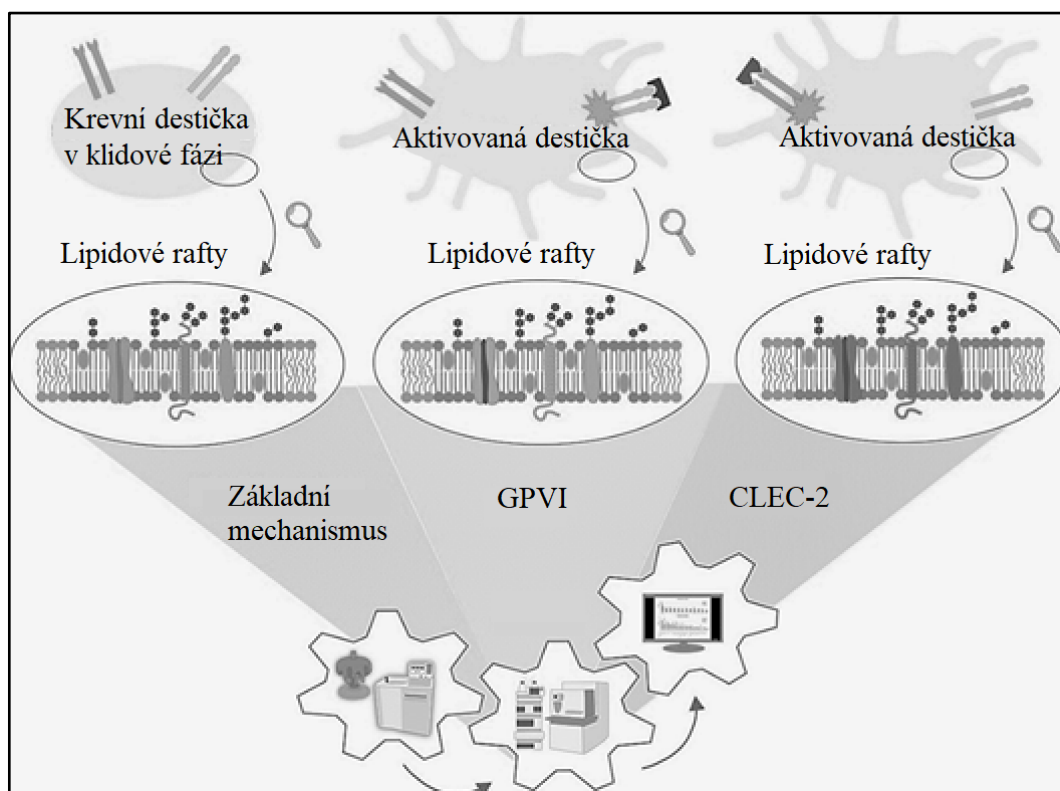
Na povrchu cytoplasmatické membrány krevní destičky, se nachází obrovské množství receptorů. Jedná se o „*Pattern Recognition*“ receptory (PRR) a „*Crystallizable Fragment*“ receptory (FcR), které jsou stimulovány autokrinně, parakrinně a exokrinně. Nové studie poukazují na fakt, že destičky aktivují komplementový systém prostřednictvím interakce P-selektinu a C3B (Sonmez, 2017). Hlavní funkcí P-selektinu v uplatnění krevních destiček v imunitním systému je zprostředkování interakce destiček a leukocytů. Adherované krevní destičky exprimují P-selektin a ten následně imobilizuje leukocyty v místě léze. P-selektin společně s jeho receptorem PSGL-1 vyskytujícím se na povrchu monocytů má kromě funkce lokalizace monocytů i další funkci. Interakcí P-selektinu a PSGL-1 je indukována tvorba mikročástic (MPs), které jsou nositelem tkáňového faktoru a mají za následek prozánětlivé změny na monocytech (Morrell, 2014).

Aktivované destičky uvolňují MP a jsou tedy jejich hlavním zdrojem, ale tyto částice jsou produkovány téměř všemi buňkami. Destičky jsou mediátory intercelulární vaskulární komunikace prostřednictvím MP a přenosu mikroRNA odvozené z destiček (miRNA) na jiné vaskulární buňky. MPs jsou běžně definovány jako vezikuly lipidové membrány o velikosti 0,1-1 μm . MP uvolněné z krevních destiček (PMP) jsou nositeli adhezních molekul (P-

selektin) a chemokinů (RANTES), což usnadňuje zastavení monocytů v místě ukládání PMP podél stěny cévy, což potenciálně urychluje aterosklerózu (Morrell, 2014). Krevní destičky zároveň obsahují receptory pro C1Q, které zprostředkují průběh klasickou cestou. Komplement a aktivace krevních destiček podporuje samotnou tvorbu trombu. (Sonmez, 2017).

GPVI je membránový receptor výhradně situovaný v megakaryocytech a krevních destičkách, kde hraje hlavní roli jako receptor pro kolagen. Aktivace vyžaduje nekovalentní interakci s řetězcem γ receptoru Fc (FcR γ) a fosforylaci receptoru „*Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif*“ (ITAM) závislého na tyrosinkináze pro aktivaci destiček. Následuje aktivační kaskáda s účastí tyrosin-protein kinázy, fosforylací linkeru aktivace T-lymfocytů (LAT) a aktivací PLC γ 2. GPVI patří do skupiny lipidových raftů, známých také jako „*Glycolipid-enriched Membrane Microdomains*“ (GEMs), což jsou membránové domény obohacené o glykolipidy. Jedná se o uspořádané membránové mikrodomény, které jsou vysoce obohaceny o sfingolipidy a cholesterol. Tyto struktury obsahují klíčové signalizační proteiny (Izquierdo, 2019).

Lektinový receptor typu C (CLEC-2) je silně zastoupen na povrchu krevních destiček. S tímto typem receptoru se setkáváme také u imunitních buněk, jako jsou T-lymfocyty a dendritické buňky a také u dalších homeopatických buněk (Sonmez, 2017). CLEC-2 představuje receptor pro endogenní, destičky aktivující protein podoplanin (Gp38) a pro aktivační protein rhodocytin, který je obsažen v hadím jedu zmije *Calloselasma rhodostoma*. Patří do skupiny ITAM. Jeho aktivace je obdobná jako u GPVI (Obr. 7), liší se spouštěcím signálem, kterým je u tohoto receptoru fosforylace hemITAM na cytosolické doméně (Izquierdo, 2019). Navázání ligandu na receptor CLEC-2 způsobuje fosforylaci tyrosinového zbytku v cytoplasmatické doméně u CLEC-2. Následná signalizace je zprostředkována pomocí „*Spleen Tyrosine-protein kinase*“ (SYK) (Kunicki, 2009).



Obr. 7: Přehled jednotlivých drah mechanismu působení lipidových raftů (upraveno dle Izquierdo, 2019)

Membránové glykoproteiny slouží jako receptory, podílejí se na adhezi destiček. Nasměrování leukocytů v případě poranění je způsobeno interakcí makrofágového integrinu $\alpha M\beta 2$ (Mac-1) u leukocytů a glykoproteinu Ib-a u krevních destiček (Sonmez, 2017). Ačkoliv exocytóza destičkových granul přispívá primárně k aktivaci krevních destiček a k následné tvorbě primárního trombu, mnoho granuly derivovaných mediátorů má také primární nebo sekundární funkci se uplatňovat jako molekuly imunitního systému (Morrell, 2014).

3.2 Uplatnění krevních destiček v imunitních reakcích

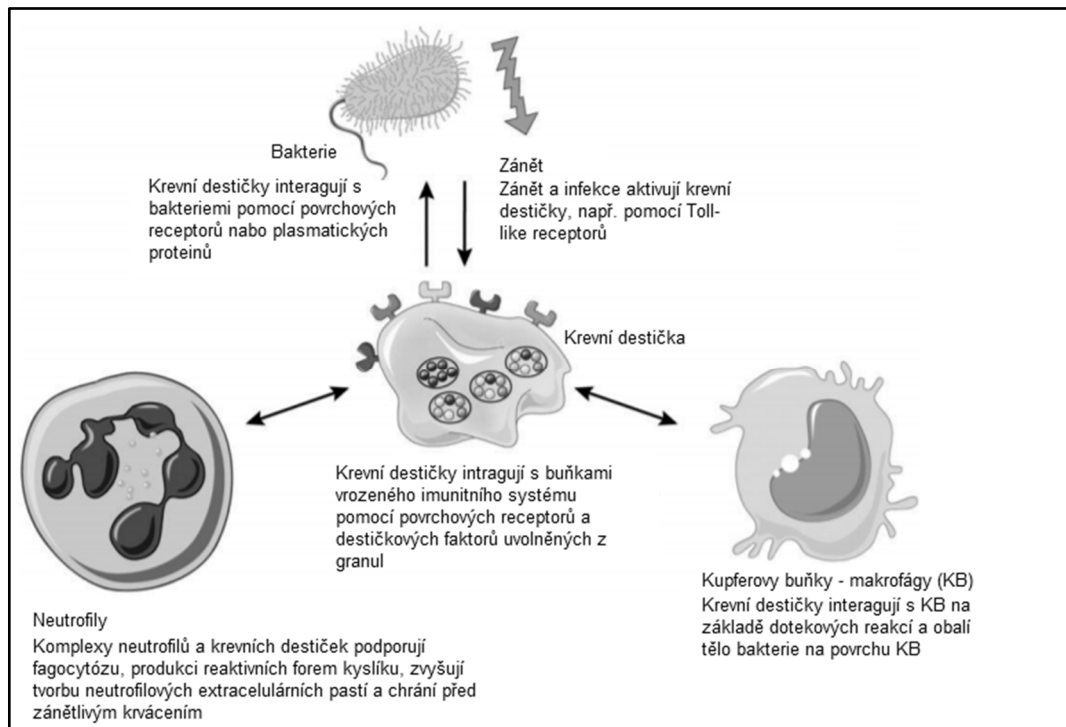
Krevní destičky interagují s leukocyty a s vaskulárními endoteliálními buňkami buď mechanismy přímé cesty, které jsou závislé na kontaktu, tak ale i mechanismy nepřímými, které jsou řízeny sekrecí imunitních mediátorů (Tab. 3). Z tohoto důvodu můžeme účinky krevních destiček pozorovat jak lokalizované přímo v jednom místě, kde dochází k aktivaci i ukládání destiček nebo systémově na místech, které jsou od aktivace vzdálené (Morrell, 2014).

Tabulka 3: Shrnutí hlavních funkcí krevních destiček, které se podílejí na průběhu zánětu a imunitní odpovědi (upraveno dle Thomas, 2015)

MECHANISMUS	HLAVNÍ ÚČINKY MECHANISMU
Uvolnění α-granul	Obsah mediátorů s prozánětlivými účinky
Exprese P-selektinu	Reakce s PSGL-1, tvorba agregátů, tvorba křížových vazeb mezi leukocyty a endotelem, usnadnění adheze
Tvorba agregátů destička-leukocyt	Upregulace prozánětlivých funkcí leukocytů, uvolňování prozánětlivých cytokinů, produkce ROS, fagocytóza a endoteliální adheze
Exprese CD40L	Interakce s CD40, exprese TF (tkáňový faktor), aktivace koagulačního systému
NETs zprostředkované TLR4	Likvidace bakterií, protrombotický efekt, podpora tvorby trombu
Aktivace komplementu zprostředkovaná P-selektinem	Uvolnění chondroitin sulfátu, aktivace komplementu, likvidace mikrobů, přispívá k vaskulárnímu zánětu
Uvolnění HMGB1	Kontakt HMGB1 s neutrofilů, tvorba NETs, HMGB1 silný zánětlivý stimulant, aktivace MAP kinázy a faktoru NF- κ B
Aktivace krevních destiček v důsledku vazby GPIIb a GPIIb/IIIa bakteriemi	Agregace destiček, vznik trombocytopenie, obklopení bakterií destičkami, zneprístupnění pro leukocyty
Exprese TREM1 ligandu	Zprostředkování aktivace leukocytů, indukce sekrece IL-8, TFN α a CCL2
Uvolnění MPs	Zpřístupnění IL-1 β a RANTES endotelu, klíčová role v signalizaci pro vrozenou imunitu

Krevní destičky v rámci imunitního systému kooperují jak s buňkami vrozeného imunitního systému (Obr. 8), tak s imunitním systémem adaptivním. Jejich působení je rozmanité a rozlišit lze hned několik mechanismů působení krevních destiček (Sonmez, 2017). Patří mezi ně sekrece chemokinů a granul zprostředkujících adhezi k bílým krvinkám,

tvorba neutrofilových pastí NETs, zablokování šíření infekce tvorbou koagulátů, indukce prozánětlivých cytokinů, rozklad patogenů lysozomálními granulemi, stimulace nasměrování bílých krvinek do místa zánětu, pohlcování bakterií a vylučování chemokinů, které mají fungicidní a antibakteriální účinky.



Obr. 8: Schéma aktivace krevní destičky (upraveno dle Deppermann, 2018)

Interakce krevních destiček a zánětlivých buněk je jedním z prostředků pro aplikaci prozánětlivých účinků. Pokud dojde například k narušení kůže je místo poškození vystaveno působení mnoha patogenů. Kombinací trombotických a imunitních funkcí dochází k soustředění krevních destiček na úlohu hemostázy a tvorbu imunitní odpovědi proti potenciálně nebezpečným agens, tak aby se zabránilo invazi patogenů v co největší míře. Pokračující nebo chronická interakce krevních destiček a bílých krvinek nebo endoteliálních buněk však vede k nepříznivým účinkům, které jsou způsobeny nadměrnou stimulací imunitního systému a chronickými zánětlivými stavy (Morrell, 2014).

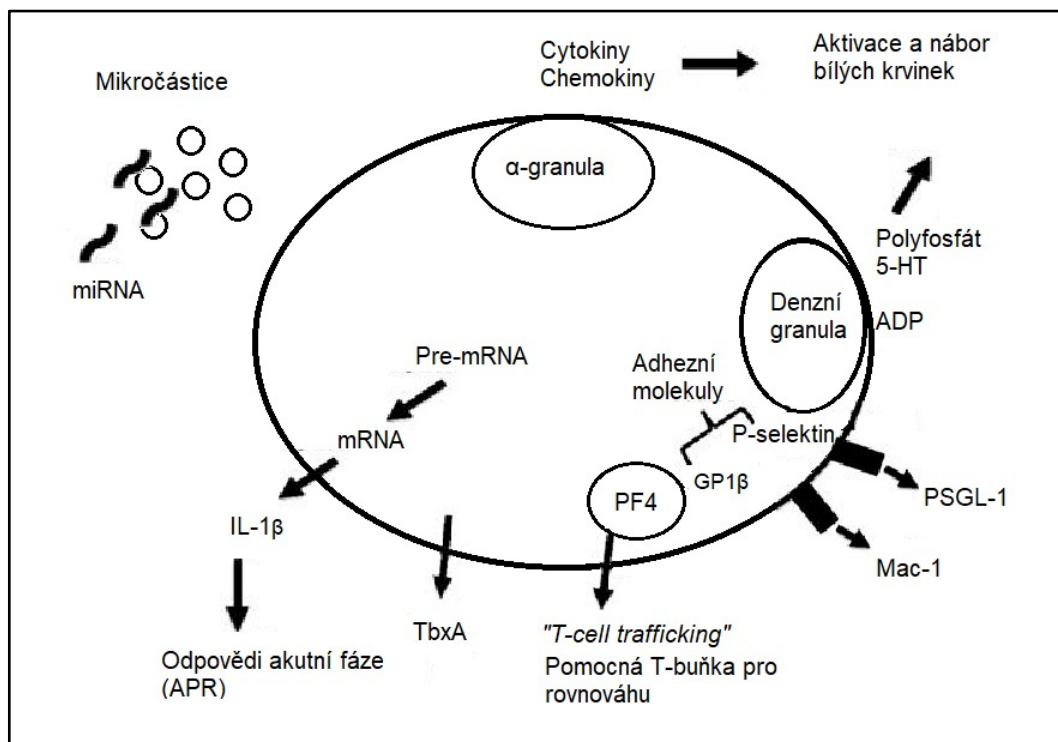
3.2.1 Imunitní odpovědi vrozené imunity v kooperaci s krevními destičkami

Reakce akutní fáze (APR) je výsledkem stimulace mikrobem nebo odezvou na působení cytokinů IL-1 β , IL-6, TNF α a IFN γ , které se uvolňují aktivací makrofágů a NK buněk. Interleukiny jako jsou IL-1 β , IL-6 a IL-8 jsou všechny silnými induktory APR

(Lydyard, 2011). Krevní destičky nejsou přímým zdrojem IL-6 a IL-8, ale za to jsou hlavním zdrojem IL-1 β . Tento interleukin není uložen přímo v granulách, jako zbylé zmíněné, ale je produkován stimulací krevních destiček. Se stimulací krevních destiček dochází k sestřížení vlákna IL-1 β pre-mRNA a dochází k převedení IL-1 β mRNA na pro-IL-1 β . Následně se uvolňuje vlastní funkční IL-1 β (Obr. 9) (Morrell, 2014).

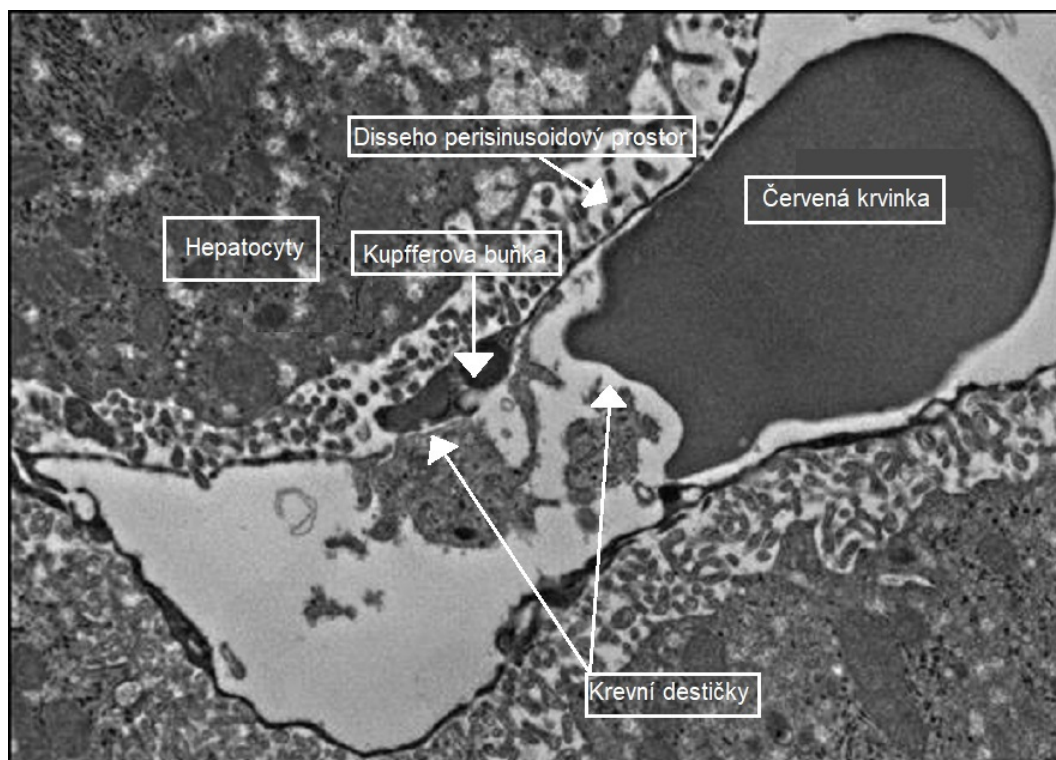
Tento děj je typický produkcí proteinů jako jsou C reaktivní protein (CRP), sériový amyloidový protein A (SAA) a P (SAP), manózu vázající protein (MBP), komplementové proteiny a fibrinogen, který je uložen v játrech. Proteiny akutní fáze tvoří heterogenní skupiny plasmatických proteinů, které jsou nezbytné pro funkčnost vrozené imunity při obraně proti patogenů, zejména pak bakteriím. Tyto reakce nejčastěji mají za cíl snížení poškození tkáně vzniklého traumatem, infekcí, malignitou nebo jiným onemocněním. Tyto proteiny maximalizují účinnost doplňkového systému a následně vznikající opsonizace, která poté napadá a ničí samotný patogen nebo inhibuje jeho růst (Lydyard, 2011). Mají také výrazné prokoagulační účinky, které pozitivně ovlivňují vznik koagulátů, které omezují šíření infekce tím, že v lokálních sraženinách zachycují patogeny.

Krevní destičky mají pozitivní vliv na indukci APR. Po vaskulárním kompromisu je tedy vhodné, aby byly APR byly aktivovány současně s krevními destičkami, aby bylo co nejdříve možné infekci lokalizovat a omezila se invaze potenciálních patogenů do celého systému (Morrell, 2014).



Obr. 9: Schéma imunitních mediátorů odvozených od krevních destiček (upraveno dle Morrel, 2014)

V modelové studii, kde došlo k infekci myši onemocněním malárie způsobeným bakterií *Plasmodium malariae*, byla popsána aktivace krevních destiček v průběhu rozšíření infekce v organismu. Bylo prokázáno, že destičky jsou aktivovány již bezprostředně po infekci a interleukin IL-1 β od nich odvozený má hlavní roli při indukci mechanismu APR. Určitý počet krevních destiček, jak je zřejmé z Obrázku 10, byl také lokalizován přímo v napadené oblasti jaterních sinusoid, což poukazuje na fakt, že krevní destičky mohou vyvolat mechanismus APR kontaktně závislým způsobem (Aggrey, 2013).



Obr. 10: Interakce destiček a sinusoid hepatocytů při infekci způsobené bakterií *Plasmodium berghei* (Morrel, 2014)

Toll like receptory (TLR) jsou transmembránové glykoproteiny typu I., které mají v různých variantách délku 700-1100 aminokyselin. Patří do skupiny PRR receptorů (Sonmez, 2017). Jsou specifické dvěma typy domén, extracelulární a intracelulární. Extracelulární doména obsahuje úseky bohaté na leucin. Intracelulární doména obsahuje konzervovanou oblast zvanou Toll/IL-1 receptorová doména (TIR) a transmembránovou doménu. Úseky bohaté na leucin se vyskytují u cytoplasmatických a transmembránových proteinů a podílejí se na rozpoznávání ligandů, jeho označení a přenosu signálu (Vu, 2017). Nejběžnějšími TLR ligandy jsou lipopolysacharidy (LPS), nemethylový cytosin-guaninový dinukleotid, dvouřetězcová RNA a lipoproteiny (Morrell, 2014). Výzkumy prokazují, že na krevních destičkách se vyskytují zejména exprese TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR9, TLR7 a TLR9.

Tyto receptory jsou aktivovány po interakci se stimulátorem, kterým mohou být například viry, mikroby nebo jiné cizorodé hematopoetické buňky (Shiraki, 2004). Z důvodu, že sepsa způsobená gramnegativními bakteriemi patří mezi časté klinické diagnózy, zaměřuje se diagnostika na detekci neimunní trombocytopenie (Morrell, 2014). Ta je důsledkem nasměrování krevních destiček do místa zánětu a adheze krevních destiček a buňkám bílých krvinek. Jejich kooperací dochází ke zvýšení efektivity bílých krvinek a tvorbě nových

agregátů. Tím tedy dochází k úbytku krevních destiček v oběhovém systému (Sonmez, 2017). Pro detekci se využívá lipopolysacharidových signalizačních mechanismů prostřednictvím receptoru TLR4 (Morrell, 2014). Stanovené množství krevních destiček určuje parametr označený jako SOFA („*Sequential Organ Failure Assessment*“), který se používá při hodnocení stupně sepse (Sonmez, 2017).

Receptory TLR7 jsou aktivovány virem encefalomyokarditidy (EMCV). Následně dochází k trombocytopenii, protože krevní destičky interagují s leukocyty a vytvářejí agregáty, které vznikají po internalizaci neutrofilů. Receptory TLR2 slouží k aktivaci po napadení bakteriemi. Stimulace TLR2 zvyšuje expresi P-selektinu a zvyšuje prozánětlivou odpověď krevních destiček a tvorbu agregace neutrofilů uvnitř destiček. TLR4 stimuluje vznik neutrofilových extracelulárních pastí (NET) (Sonmez, 2017).

Neutrofilů působí na rezistentnost jednotlivých patogenů prostřednictvím 3 různých mechanismů, kterými jsou sekrece antimikrobiálních cytokinů, pohlcení patogenu a tvorba „*Neutrophil extracellular traps*“ (NETs) (Sonmez, 2017). NETs jsou dlouhé vláknité struktury chromatinu pokrytého granulózními složkami (myeloperoxidáza (MPO), neutrofilní elastáza a katepsin G). Tyto síťovité útvary mají antimikrobiální účinek na grampozitivní i gramnegativní bakterie, fungicidní účinek a mají schopnost sekvenování virů ve virových infekcích (Martinod, 2014). Při vystavení organismu působení viru (například Poxvirus) nebo bakteriálního patogenu, kdy dochází ke styku krevních destiček s povrchovými lipopolysacharidy krevní destičky začnou adherovat na povrchu neutrofilů. Proces tvorby je aktivován působením TLR4. Dochází k uvolnění extracelulární vláknité matrix, která je označována právě jako NET. Tvorba NET nastává velice rychle, řádově v minutách, a může vést k usmrcení neutrofilů. NET situované v krevních cévách zachycují cirkulující bakterie při jejich průchodu skrz cévní stěnu (Sonmez, 2017).

Stanovení cirkulačních hladin NET v plasmě lze použít k predikci, u kterých pacientů se budou po transplantaci kostní dřeně vyvíjet trombotické mikroangiopatie. Krevní produkty podávané pacientům mohou také obsahovat NET, pokud nejsou před podáním transfuze leukodepletovány. Tyto infuze obsahující NET mohou být po podání pro pacienta toxické a mohou přispět k trombotickým událostem (Martinod, 2014).

3.2.2 *Imunitní odpovědi adaptivní imunity v kooperaci s krevními destičkami*

Krevní destičky ovlivňují tvorbu odpovědi imunitních odpovědí adaptivního imunitního systému. Jejich vliv je uplatňován zejména na T-lymfocytech, u kterých mají vliv

na transport těchto buněk, jejich aktivaci a diferenciaci. T-lymfocyty mají schopnost aktivovat krevní destičky prostřednictvím CD40, kdy dochází k interakci CD40 a krevních destiček. Při tomto procesu dochází k uvolnění RANTES a dalšímu uvolnění T-lymfocytů (Morrell, 2014).

Krevní destičky jsou hlavním zdrojem rozpustné formy CD40L (CD154), patřící mezi „*Tumor Necrosis Factor*“ (TNF). Tento ligand je vázán společně se svým receptorem CD40 (Karnell, 2019). CD40 je uložený α -granulích a po aktivaci exprimuje na povrch destiček. Odtud je následně uvolněn v podobě rozpustné formy do extracelulárního prostředí. Odvozené formy CD40L mohou být také dodány prostřednictvím MP, což představuje mnohonásobně větší počet těchto částic a také možnost působení ve vzdálených interakcích (Morrell, 2014). Jejich interakce vede k vazbě krevních destiček na elementy bílé krevní řady, jako jsou monocyty, makrofágy a lymfocyty. Tato vazba vyvolává imunitní a zánětlivé reakce, jako je například produkce superoxidu a reaktivních forem kyslíku (ROS) v neutrofilech (Sonmez, 2017). Vytváří se vazby CD40L na povrchu neutrofilů a nastává zvýšení schopnosti adheze (Karnell, 2019). Destičkový CD40L zvyšuje účinnost imunity zprostředkované T-lymfocyty, která je směřována především proti virové infekci a je také nezbytný pro optimální produkci IgG, ke které dochází prostřednictvím indukce dendritických buněk a změny izotopů B-lymfocytů. Destičky zvyšují intenzitu signálů potřebných pro aktivaci adaptivní a humorální imunity a tvorbu zárodečných center (Morrell, 2014).

FCER1 také označované jako Fc ϵ RI receptory jsou vysoce afinitní receptory IgE. Stimulací tohoto receptoru dojde ke spuštění sekrece serotoninu a RANTES. Tento proces podporuje odpověď v podobě alergické reakce zprostředkované IgE (Sonmez, 2017).

Krevní destičky mají také vliv na působení dendritických buněk. Mají na svědomí řízení přísunu patogenů do dendritických buněk. Například bakterie *Listeria monocytogenes* se spojuje s krevními destičkami v krvi způsobem závislým na GPIb a komplementu, což vede k orientaci komplexů krevní destička + *Listeria* na splenické CD8 α^+ na dendritických buňkách. Výsledkem je směřování těchto baktericidních procesů od méně imunogenních fagocytů k více imunologicky aktivním komplexům CD8 α^+ na dendritických buňkách. Destičky mají schopnost rekrutovat a aktivovat dendritické buňky prostřednictvím interakcí mezi CD11 β /CD18 (Mac-1) a „*Junctional Adhesion Molecule*“ (JAM) typu C, čímž dochází ke stimulaci aktivace dendritických buněk. Expresí kostimulačních molekul CD80 a CD86 T-lymfocytů je stimulována aktivovanými krevními destičkami, u kterých došlo k aktivaci nezávislé na přímém kontaktu, což způsobuje intenzivnější a rychlejší odezvu a reakci T-lymfocytů (Morrell, 2014).

4 Role krevních destiček u vybraných typů onemocnění

Infekční onemocnění jsou celosvětově nejčtenější příčinou úmrtí. Krevní destičky se pojí k vaskulárním zánětům a k imunitním komplikacím spojených s malárií, sepsí, HIV, chřipkou a dalšími. Krevní destičky mají schopnost omezovat šíření infekce, ale v mnoha případech mají silné prozánětlivé účinky a mohou komplikovat progres onemocnění (Morrell, 2014).

Zvýšené hladiny MP elementů přímo souvisí s rozvojem aterosklerózy u pacientů trpících na diabetes mellitus, s rozsahem poškození srdce při prodělaném infarktu myokardu, vývojem akutního koronárního syndromu a po proděláním mozkové mrtvice. Vývojový endoteliální lokus-1 přispívá k endoteliálnímu vychytávání PMP. Zánětlivé účinky PMP se rozšiřují i na jiná onemocnění. PMP jsou přítomny ve zvýšeném počtu ve společném prostoru jedinců s revmatoidní artritidou a jsou prozánětlivé indukci synoviálních fibroblastových cytokinových odpovědí způsobem závislým na PMP IL-1 α a IL-1 β . PMP IL-1 β také přispívá k endoteliální permeabilitě během infekce flavivirem Dengue, který způsobuje stejnojmenné horečnaté onemocnění. Jedná se o RNA virus s pozitivním řetězcem, který je přenášený komáry. Trombocytopenie v případě infekce tímto virem je pozorována z důvodu mitochondriální dysfunkce a stimulaci apoptotické kaspázy (Morrell, 2014).

4.1 Malárie

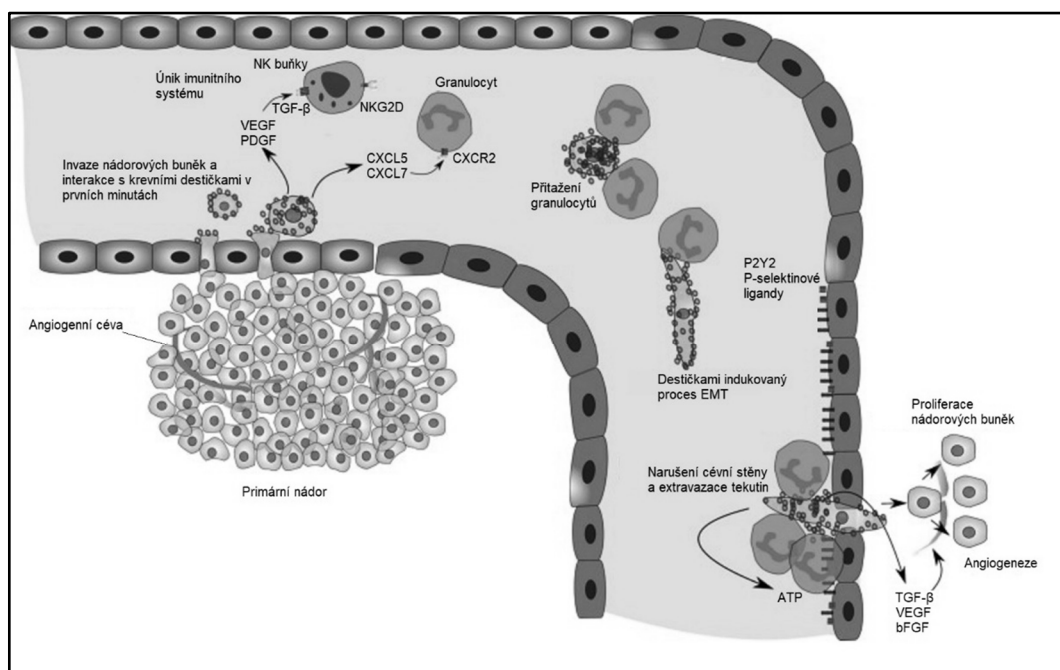
Malárie je závažné onemocnění, které může vést až k život ohrožujícím komplikacím, jako je akutní selhání ledvin, vznik náhlých srdečních chorob, onemocnění dýchacích cest a až k úmrtí pacienta (Bhardwajab, 2020). Onemocnění je nejčastěji přenášeno infikovanými samičkami komárů. Dalšími možnými způsoby nákazy jsou přenos krví (podání krevních produktů a transfuzí, transplantace, nozokomiální přenos, sdílení injekčních jehel u narkomanů) nebo přenos z matky na plod v děloze. Původcem tohoto onemocnění jsou bakterie z rodu *Plasmodia*. Celkem 5 druhů tohoto rodu způsobuje onemocnění u člověka, konkrétně se jedná o *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* a ve výjimečných případech *Plasmodium knowlesi* (Bartoloni, 2012). Četnost tohoto onemocnění ročně je přibližně 228 milionů případů (údaj z roku 2018). Z tohoto počtu případů až 405 000 pacientů onemocnění podlehnou. Nejvýrazněji zasaženými regiony jsou Afrika (93 % případů), Jihovýchodní Asie (3,4 % případů) a jižní oblast Východního Středomoří včetně zemí Blízkého východu (2,1 % případů) (World Health Organization, 2019).

Trombocytopenie je běžným klinickým doprovodem maláriových infekcí způsobených *Plasmodium falciparum* a *Plasmodium vivax*. Nízké koncentrace destiček korelují se zvýšenou hustotou parazitů v krevním řečišti. V době infekce se krevní destičky vážou přednostně na infikované červené krvinky. Tím ovlivňují patogenezi maláriové infekce (McMorran, 2009). Kyselina acetylsalicylová (aspirin) inhibuje cyklooxygenázy I a II, což má za následek utlumení funkce tromboxanu A₂ a snížení aktivace destiček. Inhibice funkce trombocytů aspirinem a jinými inhibitory trombocytů zabraňuje letálním účinkům, kterými lidské krevní destičky standardně působí na parazity *Plasmodium falciparum* (McMorran, 2009). PF4 a receptor erytrocytů glykoprotein Fy (CD234), na který se PF4 váže, jsou nezbytné pro usmrcení *Plasmodium falciparum*. Destičky omezují růst intraerythrocytických parazitů malárie vazbou k parazitovaným buňkám a zabíjením parazita uvnitř buňky. PF4 je uvolňován destičkami při kontaktu s parazitizovanými červenými krvinkami a protein přímo zabíjí intraerythrocytické parazity (McMorran, 2012). Při dlouhodobější aktivaci destiček a s ní souvisejícím uvolňování imunitních mediátorů od nich odvozených, se projevují negativní účinky, které mají krevní destičky na rozvoj onemocnění mozkové malárie (Morrell, 2014). Kdy krevní destičky mají vliv na iniciaci a urychlení mozkové infekce a následného poškození mozku (Thomas, 2015). Nejohroženější skupinou v případě mozkové malárie jsou děti, u kterých se neurologické komplikace vyskytují až v 47 % případů (Morrell, 2014).

4.2 Maligní nádorová onemocnění

Hematologické malignity a solidní nádory zvyšují u pacientů riziko žilní a arteriální trombózy. Vysoké riziko se vyskytuje u pacientů se solidními nádory slinivky břišní, vaječníků, mozku a hematologickými malignitami, zejména pak Hodgkinovým lymfomem. Přičemž 20-30 % všech případů venózních tromboembolismů (VTE) je spojeno právě s nádorovým onemocněním. Tyto závažné komplikace výrazně přispívají k rozvoji onemocnění a zvýšené úmrtnosti pacientů. Trombóza nastává, v případě narušení rovnováhy cirkulujících antitrombotických a protrombotických krevních elementů. Tento stav může být důsledkem změn koncentrace a aktivity koagulačního faktoru v důsledku samotného základního onemocnění, důsledek léčby a změn funkce krevních destiček. Nové studie navíc naznačují, že interakce mezi destičkami a maligními buňkami vedou k aktivaci destiček a ke zvýšení výskytu trombózy (Lee, 2017).

Destičky interagují s nádorovými buňkami, tato reakce má za následek velmi rychlou aktivaci destiček, expresi P-selektinu a tvorbu mikrotrombů destiček a nádorových buněk. Tyto nové útvary chrání nádorové buňky před vrozeným imunitním systémem, dochází zde k tzv. úniku imunitního systému. Metastatický potenciál nádorových buněk poté závisí na jejich schopnosti opustit krevní oběh a vytvářet v periferních tkáních depozity (Thomas, 2015). Kompletní schéma metastatické kaskády je zobrazeno na Obr. 11. Nádorové buňky se oddělují od primárního nádoru a narušují běžný chod krevního oběhu. Po průniku nádorových buněk dochází k bezprostřední aktivaci krevních destiček, která podněcuje obklopení nádorových buněk. Z krevních destiček jsou po jejich aktivaci uvolňovány růstové faktory a chemokiny (VEGF, PDGF, TGF- β), ty indukují anergii NK buněk, tento děj je podmíněn downregulací transmembránového proteinu NKG2D. Kromě těchto dějů dochází k přitahování granulocytů k agregátům krevních destiček a nádorových buněk pomocí chemokinů CXCL5 a CXCL7. U krevních destiček se projevuje schopnost přesunout fenotyp nádorových buněk z epitelu na mezenchym. Ve finále, krevní destičky zprostředkují nádorovým buňkám cévní zástavu a přes P-selektin a jeho ligandy pak usnadňují extravazaci nádorových buněk na subendoteliální matrix na další orgány pomocí endotelových receptorů P2Y2. Tento děj má za účel vytvoření metastatických ložisek, uvolněné růstové faktory (TGF- β , VEGF, FGF- β) podněcují proliferaci nádorových buněk a neovaskel (Schlesinger, 2018).



Obr. 11: Schematický přehled metastatické kaskády se zaměřením na destičky (upraveno dle Schlesinger, 2018)

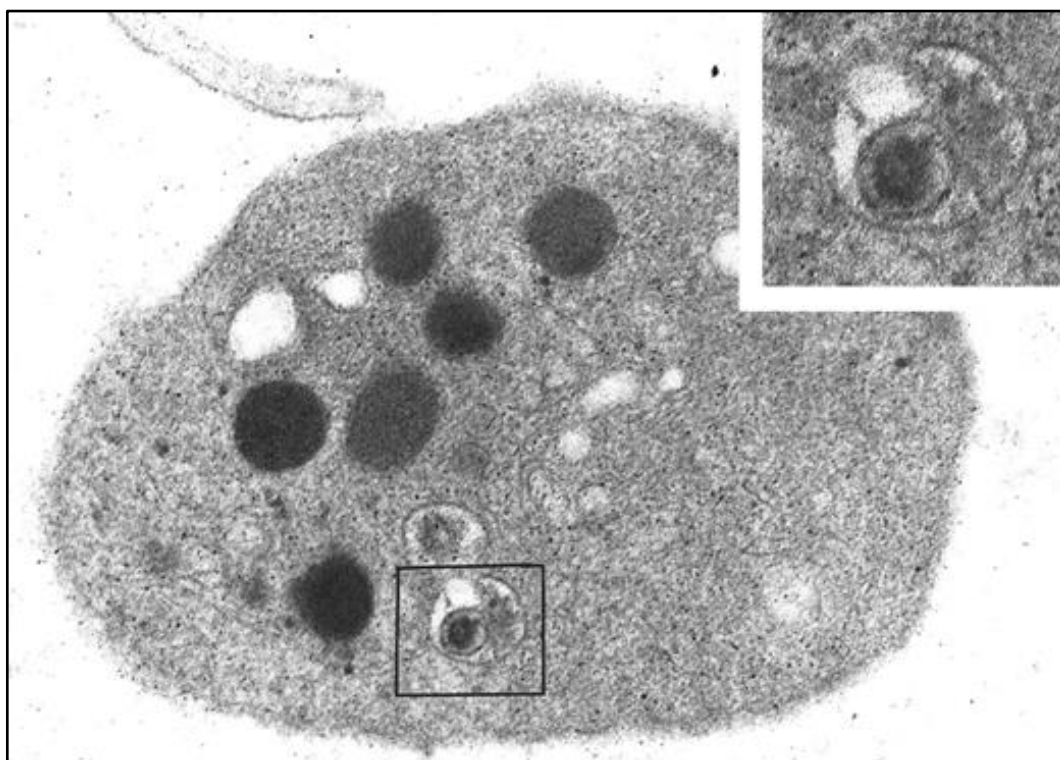
Podávání heparinu pacientům, způsobuje oslabení tvorby metastáz iniciovaných P-selektinem. Dále podávání aspirinu je také spojováno s omezením rizika tvorby vzdálených metastáz, obzvláště při léčbě pacientů s kolorektálním karcinomem. Už při nízkých dávkách aspirinu, tento lék inhibuje izoenzym cyklooxygenázu COX-1 (konstitutivní forma), naopak při zvýšení dávek progresivně inhibuje COX-2 (inducibilní forma), což má vliv na další vývoj nádoru (Thomas, 2015).

4.3 HIV+

Virus lidské imunodeficiency (HIV) je retrovirus, který může způsobit syndrom získané imunodeficiency (AIDS) (Sonmez, 2017). U jedinců s HIV+ je mnohonásobně zvýšené riziko trombózy, a to včetně závažné formy hluboké žilní trombózy a plicní embolie. Toto riziko je navíc podpořeno kardiovaskulárními komplikacemi spojenými s virovou nákazou a typem podávaných léčiv, která mají za cíl zlepšení životního standardu (Morrell, 2014).

Je prokázáno, že krevní destičky mohou pohltit virus HIV (Obr. 12). Důsledky tohoto pohlcení jsou však rozporuplné. Uvolnění viru může vést ke skrytí viru před dalšími imunitními reakcemi nebo může zabránit šíření viru (Sonmez, 2017). Krevní destičky jsou aktivovány ihned na počátku infekce, což přispívá trombocytopenii bezprostředně po rozvoji

infekce. Kromě toho jsou v krevním oběhu výrazně zvýšené agregáty krevních destiček (Morrell, 2014). Aktivované krevní destičky tvoří v oběhovém systému přechodné agregáty s monocyty, které mají poločas přibližně 30–60 minut. Úzké období detekce a aktivace destiček během zpracování vzorku představují významné problémy při detekci komplexů destiček a monocytů (PMC). Tyto komplexy se zvyšují při různých zánětlivých stavech a jsou časným markerem infarktu myokardu. Infekce HIV-1 je spojena s chronickým zánětem a u těchto jedinců byly pozorovány zvýšené zánětlivé monocyty CD16⁺ (Singh, 2012). Trombocytopenie je spojena se zvýšenými neurologickými komplikacemi infekce HIV a předpokládá se, že neuroinfekce HIV je poháněna infikovanou migrací makrofágů do mozku. Tento fakt vede ke spekulacím, že zánětlivý fenotyp makrofágů na destičkách může urychlit neurologické komplikace infekce HIV, tento fakt však nebyl ještě definitivně prokázán. Podobně jako u infekce HIV, agregáty krevních destiček a monocytů jsou zvýšené i při infekci chřipkou, což naznačuje, že krevní destičky ovlivňují všeobecně imunitní odpovědi na virovou infekci. Mnoho z těchto důležitých asociací je a bude teprve v budoucnu identifikováno (Morrell, 2014).



Obr. 12: Ultrastrukturální snímek krevní destičky pacienta s AIDS a trombocytopenií (Youssefian, 2002). Cizorodá částice uvnitř endocytární vakuoly v cirkulující krevní destičce odpovídá tvarem, denzitou a typem jádra viru HIV. ZV: 48050×; ZV výřezu: 96100×.

4.4 Stafylokoková infekce

Bakterie *Staphylococcus aureus* je nepohyblivá, nesporulující, neopouzdrěná grampozitivní bakterie s kokálním tvarem. Způsobuje mírné až život ohrožující infekce organismu, a to včetně kožních infekcí, pneumonie, endokarditidy a osteomyelitidy. Na základě rezistentnosti na antibiotika je dělíme na dvě skupiny, MRSA („*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*“), které jsou odolné vůči působení Methicillinu a VRSA („*Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*“), které jsou odolné působení Vancomycinu.

Krevní destičky mají schopnost přímo pohlcovat bakterie *Staphylococcus aureus*. Tuto reakci pak řadíme mezi mechanismy obrany první linie imunitního systému (Sonmez, 2017). K aktivaci dochází při kontaktu s α -toxinem uvolněným z bakterie. Z krevních destiček jsou následně uvolňovány specifické faktory označované jako β -defensiny. Ty mají schopnost omezovat růst *Staphylococcus aureus* a indukovat tvorbu NETs (Morrell, 2014). Kromě toho mechanismu přispívají k potlačení infekce i α -granula. Ty obsahují malé kationtové mikrobicidní proteiny, které narušují celistvost bakteriální membrány *Staphylococcus aureus* (Thomas, 2015).

5 ZÁVĚR

Krevní destičky mají hlavní úlohu při účasti na hemostáze, zároveň ale hrají důležitou roli při řízení zánětlivých reakcí a tvorbě imunitních odpovědí. Exprese P-selektinu a tvorba destičkových agregátů podněcuje stimulaci leukocytů a jejich prozánětlivých funkcí. α -granula uvolněná z krevních destiček pak obsahuje rozmanitou škálu cytokinů, které mají výrazný prozánětlivý účinek. Vysoké počty destiček, rozmanitost od nich uvolňovaných mediátorů a exprimovaných receptorů a také rozmanitý potenciál využití jejich mechanismů výrazně ovlivňují zánětlivé stavy. V případě efektivního využití aktivace destiček je možnost výrazně zvýšit terapeutické účinky na zánětlivá i infekční onemocnění. Naopak v případě chronické a nepřetržité stimulace může dojít k nežádoucím účinkům, které mohou vést až k ateroskleróze a dalším nekontrolovatelným vaskulárním onemocněním. Aktuální studie potvrzují další a další asociace mezi krevními destičkami a imunitním systémem, přičemž s přibývajícím znalostmi by pravděpodobně mohly být krevní destičky postupem času vnímány jako plnohodnotné imunitní buňky.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABBAS Abul K., LICHTMAN Andrew H., PILLAI Shiv, BAKER David L., BAKER Alexandra, 2018. Cellular and molecular immunology. 9th edition. Philadelphia: Elsevier. ISBN: 978-0-323-47978-3.
2. AGGREY Angela A., SRIVASTAVA Kalyan, TURE Sara, FIELD David J., MORRELL Craig N., 2013. Platelet Induction of the Acute-Phase Response Is Protective in Murine Experimental Cerebral Malaria. *Journal of Immunology*. 190(9), str. 4685-4691. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202672>.
3. APPEL Walter, 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd edition. New York: Academic Press. ISBN: 978-0-12-091302-2.
4. ARDEM Alan, 2003. Phagocytosis and the Inflammatory Response. *The Journal of Infectious Diseases*. 2(187), str. 340-345. DOI: <https://doi.org/10.1086/374747>.
5. BARTOLONI Alessandro a ZAMMARCHI Lorenzo, 2012. Clinical Aspects of Uncomplicated and Severe Malaria. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 4(1). DOI: <https://doi.org/10.4084/mjhid.2012.026>.
6. BHARDWAJAB Nitin, AHMEDAB Md. Zohaib, SHARMAA Supriya, SRIVASTAVAA Bina et al., 2020. Clinicopathological study of potential biomarkers of Plasmodium falciparum malaria severity and complications. *Infection, Genetics and Evolution*. vol. 77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104046>.
7. BLAIR Price a FLAUMENHAFT Robert, 2009. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews*. 23(4), str. 177-189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2009.04.001>.
8. COLMAN Robert W., CLOWES Alexander W., MARDER Victor R., GEORGE James N. et al., 2006. *Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. ISBN: 978-0-7817-4996-1.
9. COPPINGER Judith, O'CONNOR Roisin, WYNNE Kieran, FLANAGAN Michelle et al., 2007. Moderation of the platelet releasate response by aspirin. *Blood*. 109(11), str. 4786-4792. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2006-07-038539>.
10. CROWFORD Alison, ANGELOSANTO Jill M., NADWORNKY Kim L., BLACKBURN Shawn D. et al., 2011. A role for the chemokine RANTES in regulating CD8 T cell responses during chronic viral infection. *Public Library of Science. PLoS Pathogens*. 7(7). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002098>.

11. DEPPERMAN Carsten a KUBES Paul, 2018. Start a fire, kill the bug: The role of platelets in inflammation and infection. *Innate Immunity*. 24(6). DOI: <https://doi.org/10.1177/1753425918789255>
12. DUERSCHMIED Daniel, SUIDAN Georgette, DEMERS Melanie, HERR Nadine et al., 2013. Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood*. 121(6), str. 1008-1015. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-437392>.
13. BEARDS Graham, 2012. Diagram of the internal structure of a human blood platelet.
14. HARTWIG John a De SISTO Michelle, 1991. The Cytoskeleton of the Resting Human Blood Platelet: Structure of the Membrane Skeleton and Its Attachment to Actin Filaments. *Journal of Cell Biology*. 112(3), str. 407-425. DOI: <https://doi.org/10.1083/jcb.112.3.407>.
15. HERTER Jan M., ROSSAINT Jan, ZARBOCK Alexander, 2014. Platelets in inflammation and immunity. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 12(11), str. 1764-1775. DOI: <https://doi.org/10.1111/jth.12730>.
16. HIRAYAMA Daisuke, IIDA Tomoya, NAKASE Hiroshi, 2018. The Phagocytic Function of Macrophage-Enforcing Innate Immunity and Tissue Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(1). DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19010092>.
17. HOŘEJŠÍ Václav, BARTUŇKOVÁ Jiřina, BRDIČKA Tomáš, ŠPÍŠEK Radek, 2017. *Základy imunologie*. 6. vydání. Praha: Triton. ISBN: 978-80-7553-250-3.
18. CHEN Yuyuan, WANG Zhenzhen, HAO Xiaoli, LI Fenglan et al., 2019. Selective and sensitive fluorescent monitoring of acid phosphatase (ACP) activity under neutral conditions through the ACP enzymatic catalysis of dopamine as a new substrate to polydopamine. *Sensors and Actuators B: Chemical*. vol. 297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126784>. ISSN 09254005
19. CHAPLIN David D., 2010. Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 125(2), str. 3-23, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.980>.
20. ISLAM Md. Shahidul, 2016. *Thrombosis and embolism: from research to clinical practice*. vol. 1. New York: Springer. ISBN: 978-3-319-22107-6.
21. ITALIANO Jr. Joseph E. a SHIVDASANI Ramesh A., 2003. Megakaryocytes and beyond: the birth of platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1(6), str. 1174-1182. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.00290.x>.

22. IZQUIERDO Irene, BARRACHINA María N., HERMIDA-NOGUEIRA Lidia, CASAS Vanessa et. al., 2019. Platelet membrane lipid rafts protein composition varies following GPVI and CLEC-2 receptors activation. *Journal of Proteomics*. vol. 195, str. 88-97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.01.014>.
23. JENNE Craig N., URRUTIA Raul, KUBES Paul, 2013. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *International Journal of Laboratory Hematology*. 35(3), str. 254-261. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijlh.12084>.
24. KARNELL Jodi L., RIEDER Sadiye A., ETTINGER Rachel, KOLBECK Roland, 2019. Targeting the CD40-CD40L pathway in autoimmune diseases: Humoral immunity and beyond. *Advanced Drug Delivery Reviews*. vol. 141, str. 92-103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.12.005>.
25. KARSDAL Morten, 2019. *Biochemistry of collagens, laminins and elastin*. 2nd edition. Cambridge: Elsevier. ISBN: 9780128170694.
26. KRIJGSVELD Jeroen, ZAAT Sebastian, MEELDIJK Jan, Van VEELLEN Peter A. et al., 2000. Thrombocidins, Microbicidal Proteins from Human Blood Platelets, Are C-terminal Deletion Products of CXC Chemokines. *The Journal of Biological Chemistry*. vol. 275, str. 20375-20381. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.275.27.20374>.
27. KUBY Janis, 1994. *Immunology*. 2nd edition. New York: W.H. Freeman. ISBN: 9780716728689.
28. KUNICKI Thomas J., 2009. CLEC ... too!. *Blood*. 114(16), str. 3364–3365. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2009-08-236802>.
29. KUNKEL Dennis, 2018. Activated platelets, SEM. Science Photo Library.
30. LAGOU Vasiliki, GARCIA-PEREZ Josselyn E., SMETS Ide, Van HOREBEEK Lies et al., 2018. Genetic Architecture of Adaptive Immune System Identifies Key Immune Regulators. *Cell Reports*. 25(3), str. 798-810. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.048>.
31. LEE Elizabeth C. a CAMERON Scott J., 2017. Cancer and Thrombotic Risk: The Platelet Paradigm. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 4(67). DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00067>.
32. LYDYARD Peter M., WHELAN Alex, FANGER Michael W., 2011. *Immunology*. 3rd edition. New York: Garland Science. BIOS instant notes. ISBN: 978-0-4156-0753-7.
33. MARTINOD Kimberly a WAGNER Denisa D., 2014. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood*. 123(18), str. 2768–2776. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-463646>.

34. McMORRAN Brendan J., WIECZORSKI Laura, DRYSDALE Karen E., CHAN Jo-Anne et al., 2012. Platelet Factor 4 and Duffy Antigen Required for Platelet Killing of *Plasmodium falciparum*. *Science*. 338(6112), str. 1348-1351. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1228892>.
35. McMORRAN Brendan J., MARSHALL Vikki M., GRAAF Carolyn DE, DRYSDALE Karen E. et al., 2009. Platelets Kill Intraerythrocytic Malarial Parasites and Mediate Survival to Infection. *Science*. 323(5915), str. 797-800. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1166296>.
36. MORRELL Craig N., AGGREY Angela A., CHAPMAN Lesley M., MODJESKI Kristina L., 2014. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood*. 123(18), str. 2759–2767. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-462432>.
37. PECKA Miroslav, 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu*. 1. vydání. Český Těšín: FINIDR. ISBN: 80-86682-02-1.
38. RAUCH Antoine a LENTING Peter, 2013. On the Versatility of Von Willebrand Factor. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 5(1). DOI: <https://doi.org/10.4084/mjhid.2013.046>.
39. SADLER J. Evan, 1998. Biochemistry and Genetics of Von Willebrand Factor. *Annual Review of Biochemistry*. 67(1), str. 395-424. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.395>.
40. SHAZ Beth H., HILLYER Christopher D., GIL Morayma R., 2018. *Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects*. 3rd edition. Amsterdam: Elsevier Science. ISBN: 9780128137277.
41. SHIRAKI Rio, INOUE Nobutaka, KAWASAKI Satoru, TAKEI Asumi et al., 2004. Expression of Toll-like receptors on human platelets. *Thrombosis Research*. 113(6), str. 379-385. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2004.03.023>.
42. SCHLESINGER Martin, 2018. Role of platelets and platelet receptors in cancer metastasis. *Journal of Hematology & Oncology*. 11(125). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0669-2>.
43. SINGH Meera V., DAVIDSON Donna C., KIEBALA Michelle, MAGGIRWAR Sanjay B., 2012. Detection of circulating platelet–monocyte complexes in persons infected with human immunodeficiency virus type-1. *Journal of Virological Methods*. 181(2), str. 170-176. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.02.005>.
44. SONMEZ Ozge a SONMEZ Mehmet, 2017. Role of platelets in immune system and inflammation. *Porto Biomedical Journal*. 2(6), str. 311-314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbj.2017.05.005>.

45. THOMAS Mark a STOREY Robert, 2015. The role of platelets in inflammation. *Thrombosis and Haemostasis*. 114(9), str. 449-458. DOI: <https://doi.org/10.1160/TH14-12-1067>.
46. THOMAS Steven G. a MICHELSON Alan, 2019. *Platelets*. 4th edition. Waltham: Elsevier. ISBN: 978-0-12-813456-6.
47. THON Jonathan N. a ITALIANO Jr. Joseph E., 2012. Does size matter in platelet production?. *Blood*. 8(120), str. 1552-1561. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-408724>.
48. TROJAN Stanislav, 2003. *Lékařská fyziologie*. 4. vydání. Praha: Grada. ISBN: 80-247-0512-5.
49. VU Ann, CALZADILLA Andrew, GIDFAR Sanaz, CALDERON-CANDELARIO Rafael et al., 2017. Toll-like receptors in mycobacterial infection. *European Journal of Pharmacology*. vol. 808, str. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.10.018>.
50. WATSON Stephan P., MORGAN Neil V., HARRISON Paul, 2016. *The Vascular Function of Platelets*. *Postgraduate Haematology*. 7th edition. Oxford: Wiley-Blackwell, str. 772-792. ISBN: 978-1-118-85432-7.
51. World Health Organization, Global Malaria Programme, 2019. *World malaria report 2019*. France: World Health Organization. ISBN: 978-92-4-156572-1.
52. YOUSSEFIAN Tayebbeh, DROUIN Arnaud, MASSÉ Jean-Marc, GUICHARD Josette et al., 2002. Host defense role of platelets: engulfment of HIV and *Staphylococcus aureus* occurs in a specific subcellular compartment and is enhanced by platelet activation. *Blood*. 99(11), str. 4021-4029. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2001-12-0191>.