

Poruchy primární hemostázy

P. Smejkal
OKH FN Brno

Hemostáza

- **Primární**
 - trombocyty
 - cévní stěna
 - adhezivní proteiny
- **Sekundární**
 - prokoagulační faktory
 - inhibitory koagulace
- **Fibrinolytické mechanismy**
 - aktivátory
 - inhibitory

Krvácivé projevy u poruchy prim. hemostázy

- Krvácení potraumatické, perioperační (okamžitě)
- Slizniční
- Petechie
- Hematomy

Vyšetření primární hemostázy I

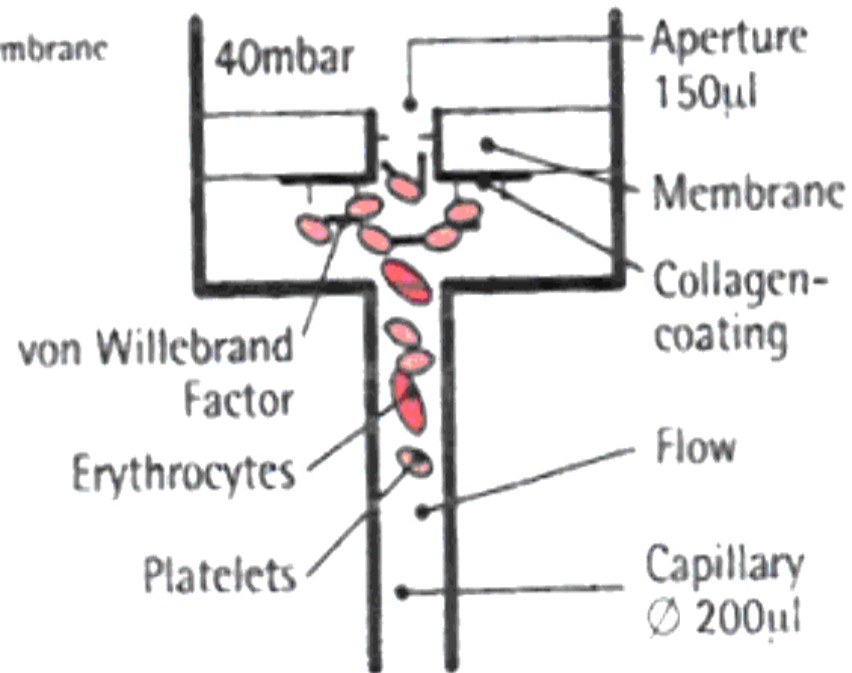
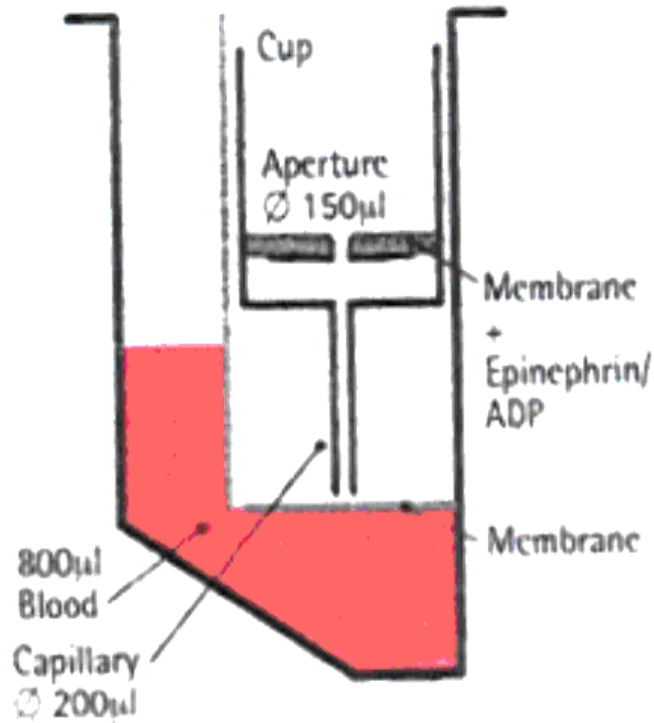
Základní vyšetření:

- počet trombocytů (MPV)
 - vyloučení koagulopatie: aPTT, PT, fibrinogen

Globální testy prim. hemostázy:

- PFA - 100
- doba krvácení: - Duke
 - Ivy (Simplat R)
- Rumpel - Leedeheo test
- trombelastograf (ROTEG)

PFA – 100 (schéma)



PFA – 100 (closure time = CT)

- kolagen / epinefrin (85 – 165 s)
- kolagen / ADP (71 - 118 s)

Závisí na:

- počtu trombocytů (<100)
- funkci trombocytů
- vWF
- Ht (<30%)
- afibrinogenemii

Nezávisí na:

- koagulačních faktorech (VIII, IX, XI)
- kumarinech
- heparinu

Vyšetření primární hemostázy II (specifická)

- adhezivita: - in vitro – dle Salzmana
- retrakce
- VWF:RCo
- ověření počtu a morfologie trombocytů (MPV)
- agregace
- imunofenotypizace
- elektronová mikroskopie
- DF 3

Vyšetření destiček na flowcytometru

Glykoproteiny:

- **IIIa = CD 61**
- **IIb = CD 41**
- **Ib α = CD 42b**
- **IX = CD 42a**
- **IV = CD 36**
- **Ia = CD 49b**
- **Ila = CD 29**

Markery aktivace:

- * **P-selectin = CD 62P**
- * **lysozomy = CD 63**
- * **neoepitopy GPIIb/IIIa:**
 - = PAC-1**
 - = LIBS**

Imunologické stanovení počtu destiček (CD41)

Retikulované trombocyty (obarvení mRNA)

Defekty primární hemostázy - cévní stěny - vrozené (dědičnost autosomálně dominantní)

- **Hemangiomy** (Kasabach-Merritt syndrom)
- **Telangiektázie** (Rendu-Osler-Weber syndrom = HHT) **(AD)**
Mutace v genech pro:
 - Endoglin (ENG, HHT1)
 - Activin A receptor typ II like (ACVRL1, ALK1, HHT2)
 - Bone morphogenesis protein (BMRR1)
 - SMAD4
- **Ehler-Danlos syndrom (AD)**
 - **cévní fragilita**, hyperelastičnost, hypermotilita, prominující bulby, malý nos a rty
 - dg: elektroforéza kolagenu z kultury fibroblastů
polovina případů: mutace COL5A1 nebo COL5A2
- **Marfanův syndrom (AD)**
 - dlouhé končetiny, prsty, aneuryzmata, subluxace čočky

Defekty primární hemostázy - cévní stěny (získané)

Henoch-Schönleinova purpura

- **vaskulitida – poškození imunokomplexy**
- **alergie – infekční agens, potraviny, léky**
- **postižení:**
 - kůže
 - sliznice GIT
 - kloubů
 - močových cest
- **pozitivní Rumpel-Leedeheho test**
- **léčba vyvolávající příčiny (+kortikoidy)**

Defekty primární hemostázy - cévní stěny (získané)

Steroidní purpura:

- změna struktury kolagenu (inhibice mRNA)
- tvorba sufuzí
- obdobou je senilní purpura

Skorbut:

- porucha tvorby kolagenu
- krvácení
 - perifolikulární
 - z dásní

Poruchy trombocytů

Odchylka počtu:

- trombocytopenie
- trombocytóza (trombocytémie)

Trombocytopatie:

- ve smyslu hypofunkce
- ve smyslu hyperfunkce
 - sticky platelet syndrome

Trombocytopenie - etiologie

- **pseudotrombocytopenie v EDTA (15-20%)**
- **destičkový satelitismus**

- **získané (sekundární)**
 - **protilátkové**
 - **ostatní**
 - **zvýšený zánik v periférii**
 - **snížená produkce**

- **vrozené (primární)**
 - **často sdružené i s trombocytopatií**

Trombocytopenie/trombocytopatie hereditární – klasifikace dle:

- **velikosti trombocytů**
- **typ dědičnosti**
- **přidružené abnormity**
- **funkčního defektu trombocytů**
- **mutace**

Velikost trombocytů

- **MPV < 7 fl**
 - **Wiskott-Aldrich sy**
- **MPV = 7-11 fl**
 - **TAR (trombocytopenie s aplazií radia)**
 - kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie
 - dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML
- **MPV > 11 fl**
 - **nejčastější**

Typ dědičnosti

- většina **autosomálně dominantní**
- **autosomálně recesivní**
 - TAR
 - Bernard-Soulier sy
 - Glanzmannova trombastenie
- **X-recesivní**
 - Wiskott-Aldrich sy

Přidružené abnormality

- **May-Hegglin anomálie (Fechtner sy, Epstein sy)**
 - gen MYH9
- **TAR (trombocytopenie s aplázií radia)**
 - gen RBM8A
- **trombocytopenie s radioulnární synostozou (srůstem)**
 - geny HOXA11, MECOM
- **dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML**
 - gen RUNX1
- **X-vázaná trombocytopenie s dyserythropoezou**
 - gen GATA 1
- **Paris-Trousseau (Jacobsen) sy**
 - gen FLI1

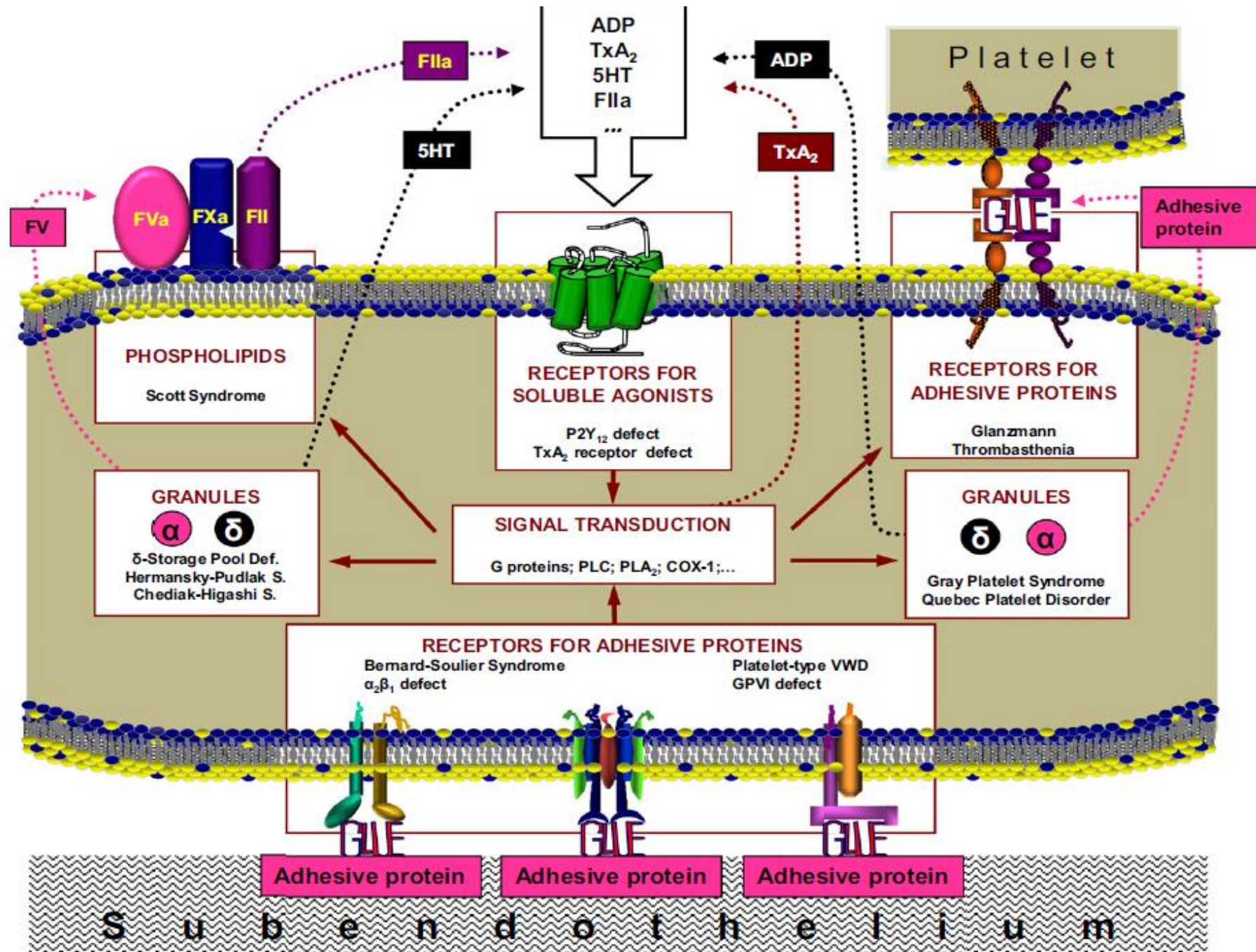
Hereditární trombocytopatie/penie dle funkčního defektu

- membrány: **Bernard-Soulier**, **Glanzmann**, **dest. typ vWCh** defekt receptoru pro kolagen (GP VI, GPIa/IIa), pro ADP, tromboxan
- δ granulí: **Wiskott-Aldrich**, **Heřmanský-Pudlák**, **Chediak-Higashi sy**, δ -storage pool disease
- α granulí: **Gray platelet sy**, **Quebec platelet sy**, **Paris-Trousseau sy**
- enzymů: COX, LPO, TXS
- signální defekty: mobilizace ARA, Ca, aktivace G proteinu, fosforylace

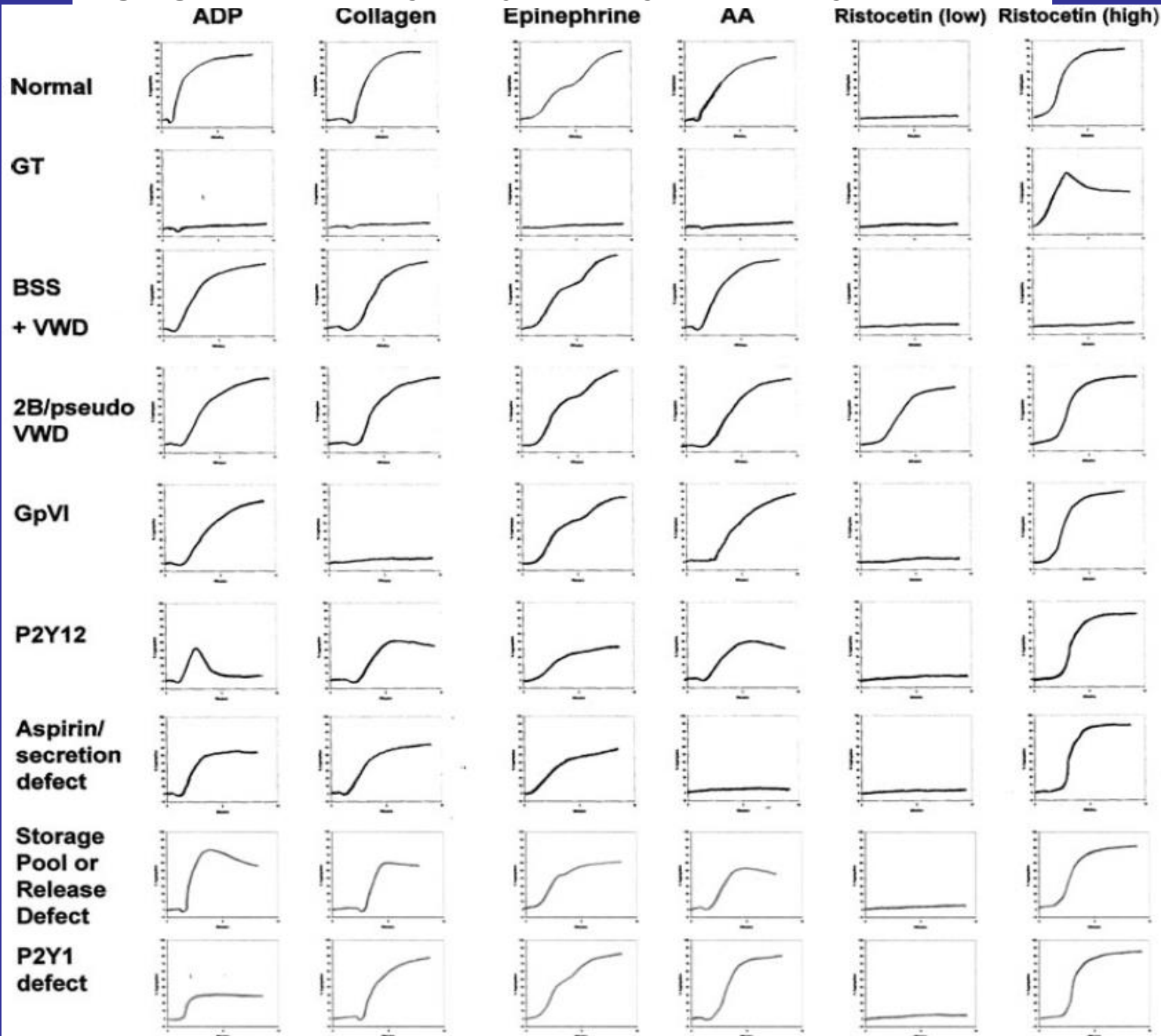
Porucha:

- adheze
- aktivace
- sekrece
- agregace
- prokoagulace

Schéma funkčních defektů u vrožených trombocytopatií



Agregace trombocytů u jednotlivých vrozených poruch



Hereditární makro - trombocytopenie I

- **Bernard-Soulier** (AR, fu – P: ristocetin)
 - defekt GPIb/IX/V,
 - defekt genů: GP9, GP1BA, GP1BB
- **Gray platelet sy** (AD, fu – P: ADP, kolagen, trombin)
 - α granula malá, prázdná, vakuolizace MGK, myelofibroza
 - defekt genu: NBEAL2
- **Destičkový typ von Willebrandovy choroby** (AD, fu – P)
 - agregace po ristocetinu $< 0,5 \mu\text{g/ml}$
 - agregace s VWF i bez ristocetinu (dif. dg. M.vW 2B)
 - defekt GP Ib, \uparrow afinita k VWF
 - defekt genu GP1BA
- **May-Hegglin anomálie** (AD, fu - N)
 - Döhleho inkluze leukocytů (1 v buňce)
 - defekt genu MYH9

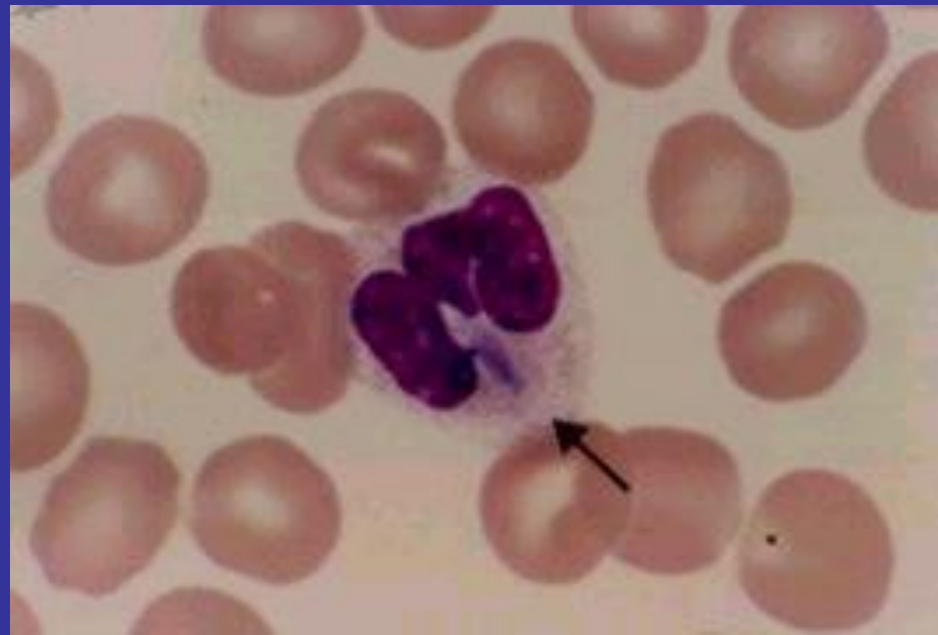
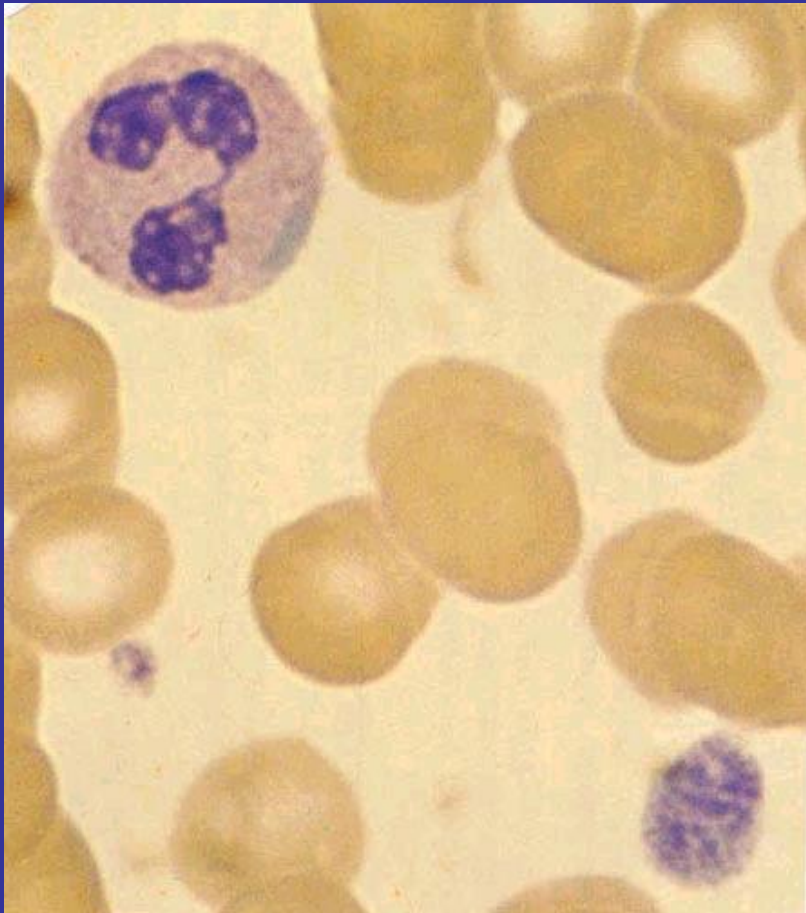
Hereditární makro - trombocytopenie II

mutace MYH9 – gen pro nesvalový myosin IIa

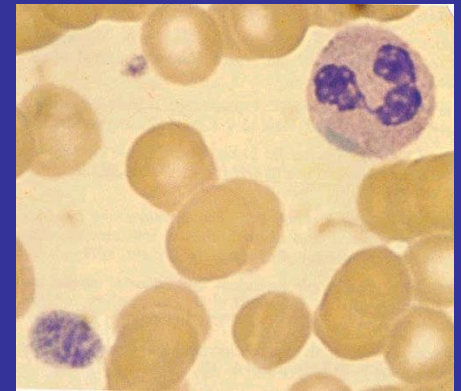
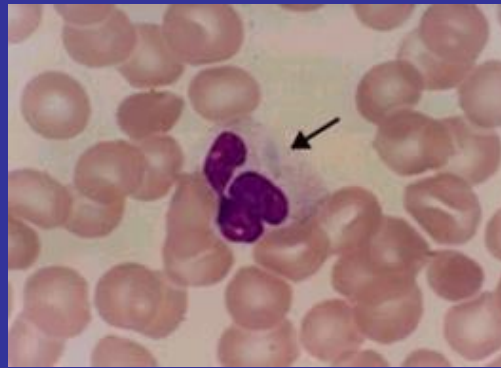
porucha distribuce uvnitř buněk myosinu a tubulinu

- May-Hegglin anomálie (AD, fu - N)
 - Döhleho inkluze leukocytů (1 v buňce)
- Epstein sy (AD, fu – P: ADP, kolagen)
 - zanoření GP Ib/IX/V
 - glomerulonefritis, hluchota
- Fechtner varianta (AD, fu – N)
 - **více** leukocyt. inkluzí (dif. dg. M-H, CH-H)
 - glomerulonefritis, hluchota, katarakta
- Sebastian varianta (AD, fu – N)
 - **více** leukocyt. inkluzí
 - bez přidruženého defektu

Döhle-like inkluze + makrotrombocyt



Döhle-like inkluze v leukocytech



- tvořeny shluky ribozomů kolem vláken abnormálního těžkého řetězce nesvalového myozinu IIA (nommuscle myosin heavy chain-A – NMMHCA)
- mutace v jeho genu označeného jako MYH9
- při panoptickém barvení, pokud hodnocení není provedeno bezprostředně po odběru, nemusí být inkluze vždy patrné
- provést **imunohistochemické barvení na NMMHCA**
 - atypické agregáty NMMHCA přítomny v každém leukocytu
 - U syndromu Epsteinova lze abnormální inkluze prokázat pouze imunohistochemicky

Hereditární normo-trombocytopenie amegakaryocytární

- **TAR – trombocytopenie s aplázií radia** (AR, fu – P: kolagen, epinefrin)
 - defekt genu RBM8A
- **trombocytopenie s radioulnární synostozou (srůstem)**
 - defekt genů HOXA11, MECOM
- **Fanconiho anemie** (AR, fu - ?)
 - **cytopenie, pigmentace, hypoplasie – skeletu, očí, ledvin, mentální retardace**
 - **instabilita chromozomů (minim. 5 genů)**
- **Quebec syndrom** (AD, fu – P: epinefrin)
 - defekt FV v α -granulích, ne v plazmě, degradace obsahu α -granulí vlivem \uparrow uPA
 - defekt genu PLAU
- **kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie**
 - pancytopenie, zvýšená hladina trombopoetinu
 - defekt genu MPL
 - terapie: HSCT (hematopoet. stem cell transplant.), vyloučit mutaci MPL u dárců v rodině
- **dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML** (AD, fu- N/P: kolagen, epinefr.)
 - defekt genu RUNX1
 - terapie: HSCT (vyloučit u dárců v rodině)

Hereditární normo – trombocytopatie I

Glanzmannova trombastenie, defekt GP IIb/IIIa (AR):

- **patol. retrakce**
 - **typ I:** - defekt FBG v α gr.
 - **II:** - norm. FBG v α gr. (norm. retr.)
 - **III:** - GP IIb/IIIa přítomen, funkční defekt
 - defekt genů ITGA2B, ITGB3
 - **norm. adhezivita**
 - **GP IIb/IIIa < 5%**
 - **GP IIb/IIIa > 10%**
- Scott syndrom: (AR)
 - porucha transportu PS ze vnitřní na vnější stranu
 - patol DF3, KT, snížení vazby FVa, Xa
 - defekt genu TMEM16F

Hereditární normo - trombocytopenie II

Defekt δ granulí: (fu - P: kolagen, epinefrin, ARA \pm , ADP \pm)

- Heřmanský-Pudlák (AR)

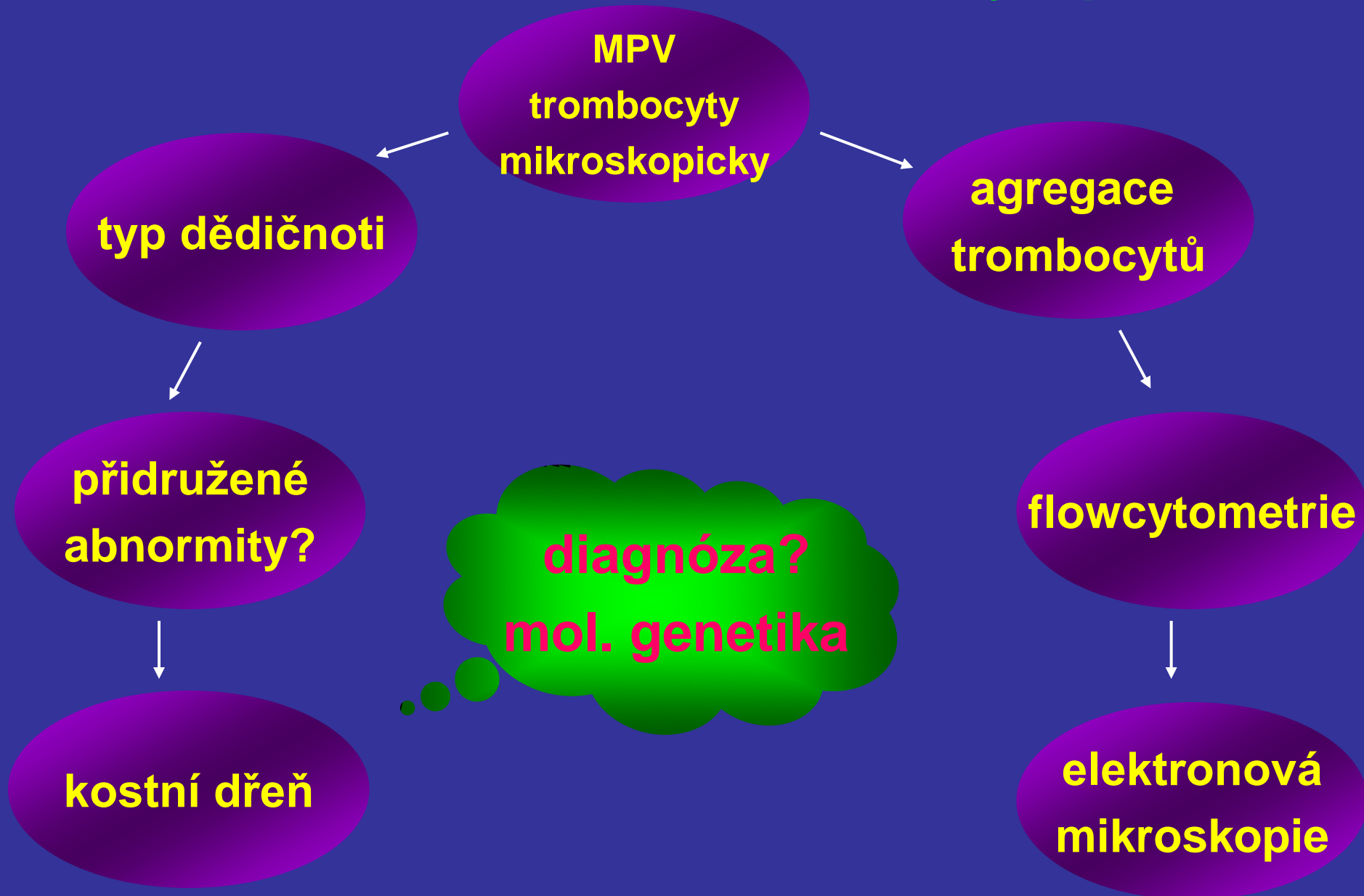
- HPS protein – fu při vzniku organel, **defekt lysozomů**
- defekt genu HPS1-9
- **okulokut. albinismus**, pigment v makrofázích
- plicní fibroza, střevní onem.

- Chediak-Higashi sy (+trombocytopenie) (AR)

- CHS protein – hydrofobní, fu v membránách, **defekt lysozomů**
- defekt genu CHS1, LYST
- **okulokutánní albinismus**, infekty, lymfoproliferace
- **Chediak-Higashi granula POX pozit**

Hereditární

trombocytopenie



Vrozená hyperfunkce trombocytů: Sticky platelet syndrome (SPS) Syndrom lepivých destiček (Mammen, Bick, Kubisz)

- dědičnost autosomálně dominantní
- neidentifikován defekt
- hyperreaktivní trombocyty
- až u 14% TEN
- zvyšuje riziko i tepenné trombózy – až u 12-33%
- průkaz:
 - ↑ agregace po epinefrinu 11 - 1,1 - 0,55 mmol/ml
 - ↑ agregace ADP 2,34 - 1,17 - 0,58 mmol/ml
 - k dg. je nutná ↑ agregace alespoň ve 2 ředěních ze 6 uvedených
- vyšetřovat u trombofilie s negat. labor. nálezem
- léčba: ASA (acetylosalicylová kyselina)

Získané trombocytopenie:

zvýšený zánik v periférii na podkladě protilátek

- autoproti látky:

- ITP: - imunokomplexy (akutní)
 - protilátky (chronická)
- HIT II: proti komplexu PF4+heparin
- antifosfolipidový sy – protilátka proti β 2GP1, který se váže i na povrch trombocytů, může být trombocytopenie

- aloproti látky:

- » novorozenecká
- » potransfúzní

Získané trombocytopenie:

zvýšený zánik v periférii neimunitní etiologie

- hypersplenismus – redistribuce (doprovází hepatopatie)
- DIC
- trombotické mikroangiopatie
 - TTP, HUS, MAHA
- HIT I
- diluce

Získané trombocytopenie: snížená produkce

- **toxické vlivy:**
 - chemické
 - léky (kombinace s protilátkami)
 - infekce (kombinace s protilátkami)
 - aplastická anemie (kombinace s protilátkami)
- **infiltrace dřeně malignitou:**
 - solidní TU, leukemie
 - lymfoproliferace (kombinace s protilátkami)
- **deficit folátů a B 12**

Heparinem indukovaná trombocytopenie HIT

HIT –typ I:

- přímý proagregační efekt heparinu, trombocyty $>100 \times 10^9/l$

HIT - typ II:

- komplex heparin-PF4-protilátka reaguje s destičkovým Fc receptorem a vyvolá uvolňovací reakci a agregaci
- předpokládá se, že jedinec se v minulosti setkal s mikrobiálním antigenem podobné struktury, proto se tvoří hned IgG
- výskyt 4. - 10. den po nasazení heparinu
- počet trombo často $< 60 \times 10^9/l$, ale ne $< 20 \times 10^9/l$
- důležitější je relativní pokles - o 50% HIT 2 vysoce pravděpodobné
- u 50% nemocných paradoxní trombózy - označováno HITT
- upouští se od rozlišení HIT I a HIT II a pojem HIT dnes znamená dřívější HIT II

Skórovací systém diagnostiky HIT II :4 T's

* *Lo et al: JTH 2006; 4: 759-765*

	2 body	1 bod	0 bodů
Tr-penia; počet	> 50% nadir >20 x10 ⁹ /l	30-50% nadir 10-19 x10 ⁹ /l	< 30% nadir < 10 x10 ⁹ /l
Timing	5-10D; ≤1D (H do 30D)	Neznámý timing; >10D; ≤1D (H 30 - 100D)	≤ 4D
Tromboza	nová; kožní nekróza, akutní sy reakce (UFH)	progrese, recidiva, susp. trombóza, ne- nekrotizující kožní reakce	žádná
Tr-penia; jiný důvod	žádný	možný	pravděpodobný

- vyšetřovat při skóre > 3
- 4-5 střední, 6-8 vysoká pravděpodobnost

HIT - typ 2 – diagnostika a léčba

- klinicky 4T > 3 + laboratorní průkaz:
 - agregace zdravých trombocytů se sérem nebo PPP pacienta s heparinem
 - nízká senzitivita, vysoká specifita ⇒ potvrzení HIT
 - ELISA pro komplex heparin-PF4 protilátky
 - vysoká senzitivita, nízká specifita ⇒ negativita vylučuje HIT
 - aktivace trombocytů uvolněním ^{14}C -serotoninu
 - vysoká senzitivita i specifita
 - cytoflowmetrie - IgG/M asociované s trombo
 - vysoká senzitivita, nízká specifita
- léčba:
 - zkřížená reaktivita mezi UFH a LMWH
 - argatroban (inhibitor IIa)
 - danaparoid
 - fondaparinux (pouze anti-Xa efekt) nelze vyloučit zkříž. reakt.

Terapie trombocytopenií / peníí

- **trombokonzentrát:**

- < $10 \times 10^9 / l$

- < $20 \times 10^9 / l$ - rychlý pokles, jiná rizika

- < $50 \times 10^9 / l$ - operace, krvácející, AML M3

- < $80 - 100 \times 10^9 / l$ - operace CNS, oční

- **KI:** TTP, HUS, HIT II

- **zohlednit:** - koagulogram (fibrinogen)

- je-li trombocytopenie

- klin. stav - krvácení

- rychlost poklesu

- **trombopoetin a jeho analoga (kratší peptidy)**

Trombocytóza

Získané:

- reaktivně:
 - infekty, nádory, záněty, stres
 - po splenektomii
 - následkem krvácení
 - při sideropenii
- esenciální **trombocytémie**:
 - klonální myeloproliferace
- doprovází i ostatní myeloproliferace:
 - CML, myelofibrózu, polycytémii vera

Vrozené:

- extrémně vzácné