

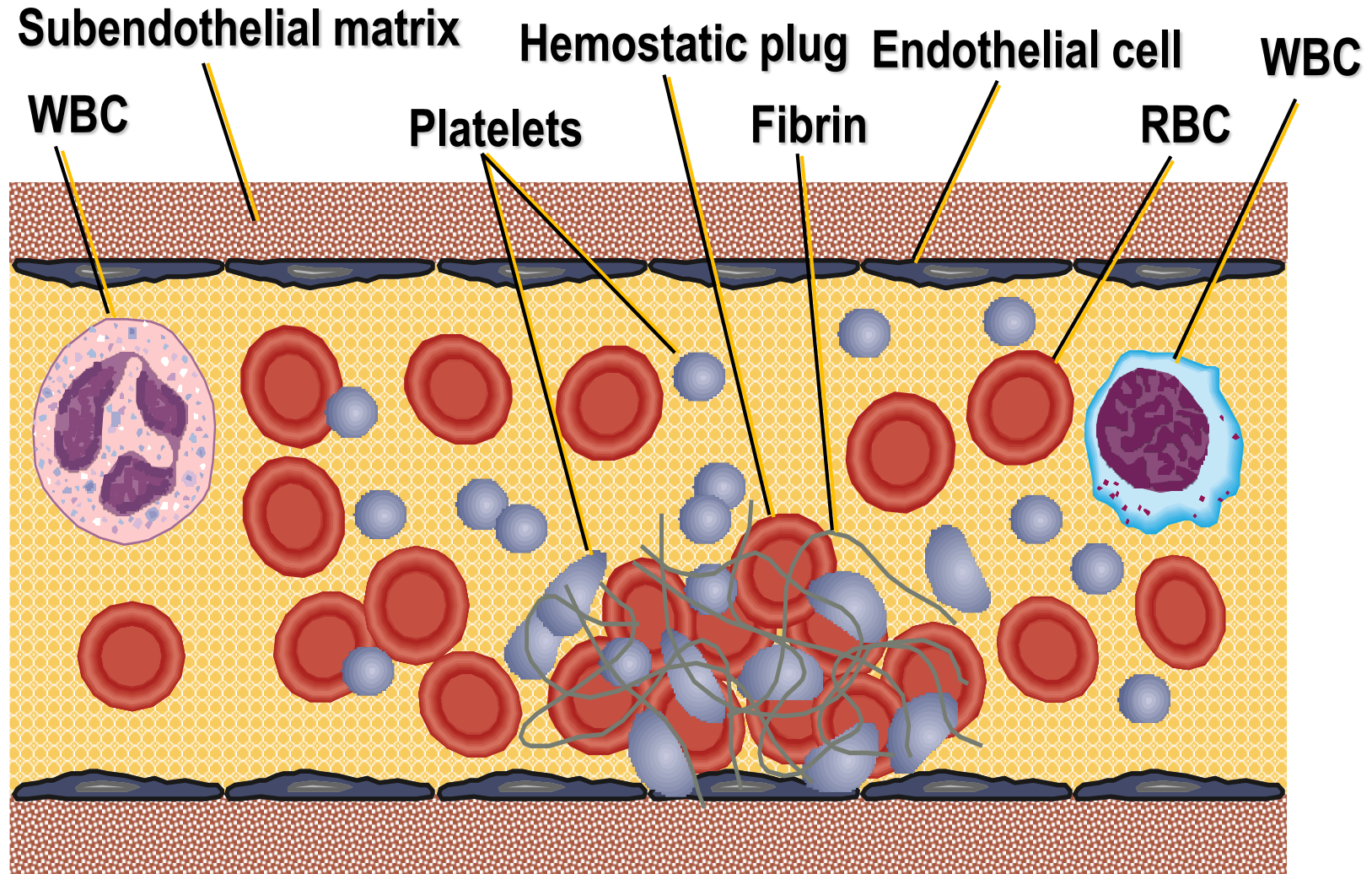
# **Patofyziologie poruch krevního srážení**

VL 15.4.2020

# Hemostáza

- Hemostáza je děj, který zabraňuje signifikantní ztrátě krve při poranění cévní stěny.
- Interakce endotelu cévní stěny, destiček, koagulace a fibrinolýzy, jejímž cílem je rovnováha všech procesů, které pokud možno zabraňují ztrátě krve při poranění cévní stěny a zajišťují průchodnost cévního řečiště.

# Hemostáza



# Abnormální hemostáza

- Excesivní koagulace vede k tvorbě trombu, který potenciálně může zastavit krevní proud v dané oblasti (obstrukce).
- To se může stát především u imobilizovaných a hospitalizovaných nemocných.
- V EU je podobným problémem trombembolická nemoc, která postihuje každoročně až milión osob.

Excesivní krvácení vzniká naopak při nedostatku koagulačních faktorů.

# Tvorba trombu

Destičky

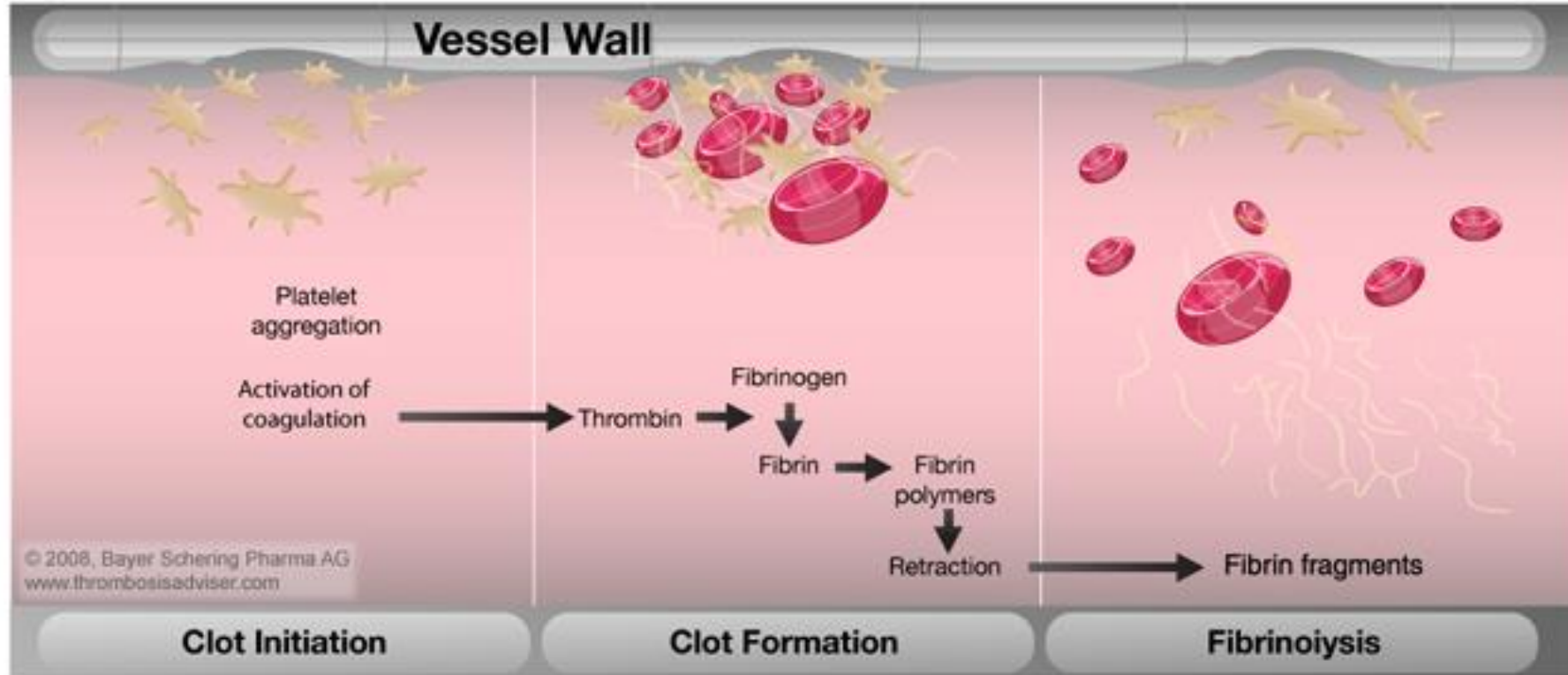


Erythrocyty

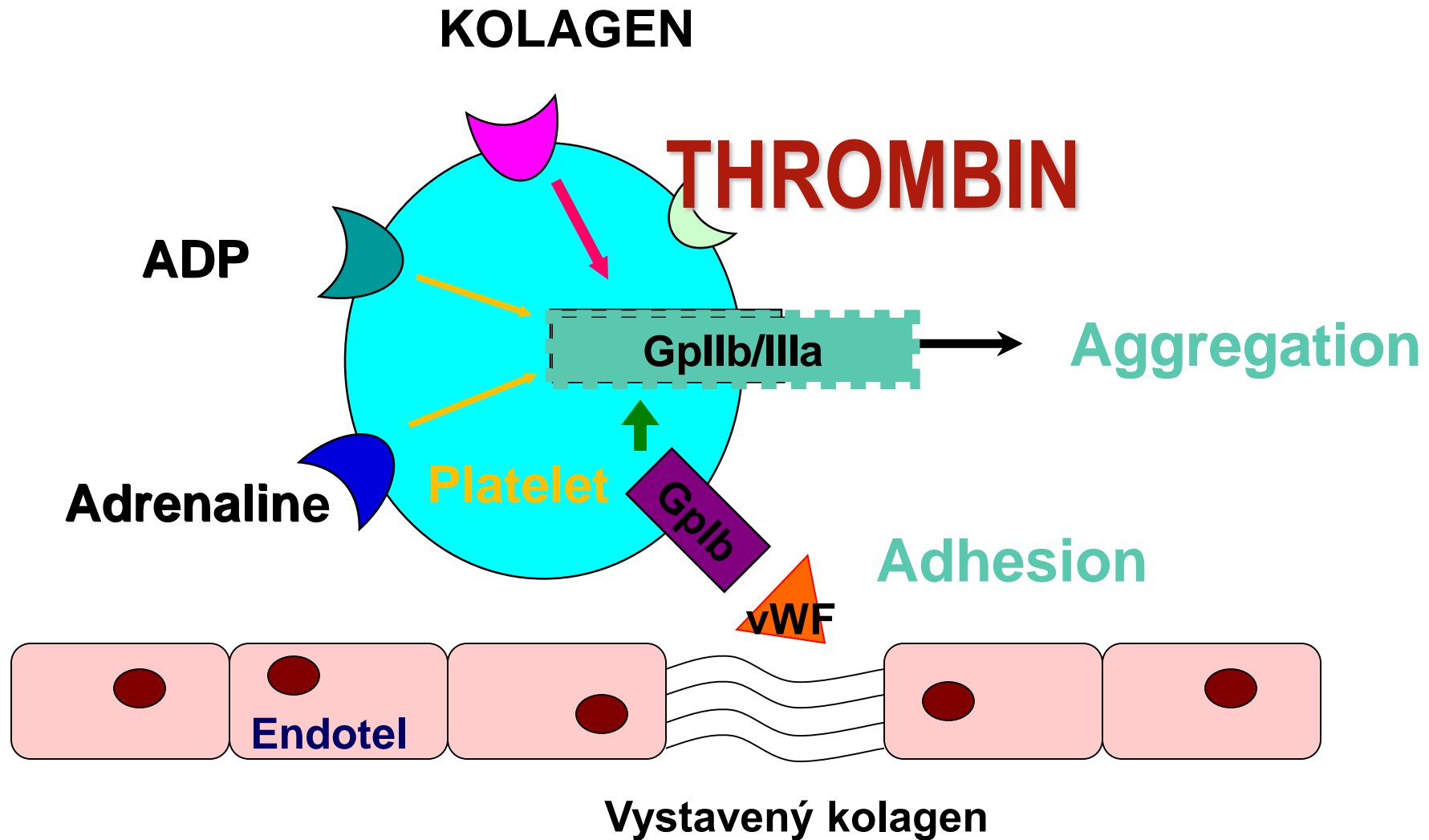
Fibrin

# Poškození cévní stěny

- Vede k těmto dějům:
  - Vazokonstrikce k omezení průtoku
  - Cirkulující destičky adherují na defekt v cévní stěně. Následně se aktivují a agregují, což je spojeno s aktivací koagulačních faktorů, která probíhá na jejich povrchu.
  - Aktivovaný trombin vede k odštěpení fibrinopeptidu A a B a tvorbě fibrinových monomerů. Ty jsou následně zpevněny příčnými vazbami pod vlivem aktivovaného faktoru XIII (aktivován trombinem).

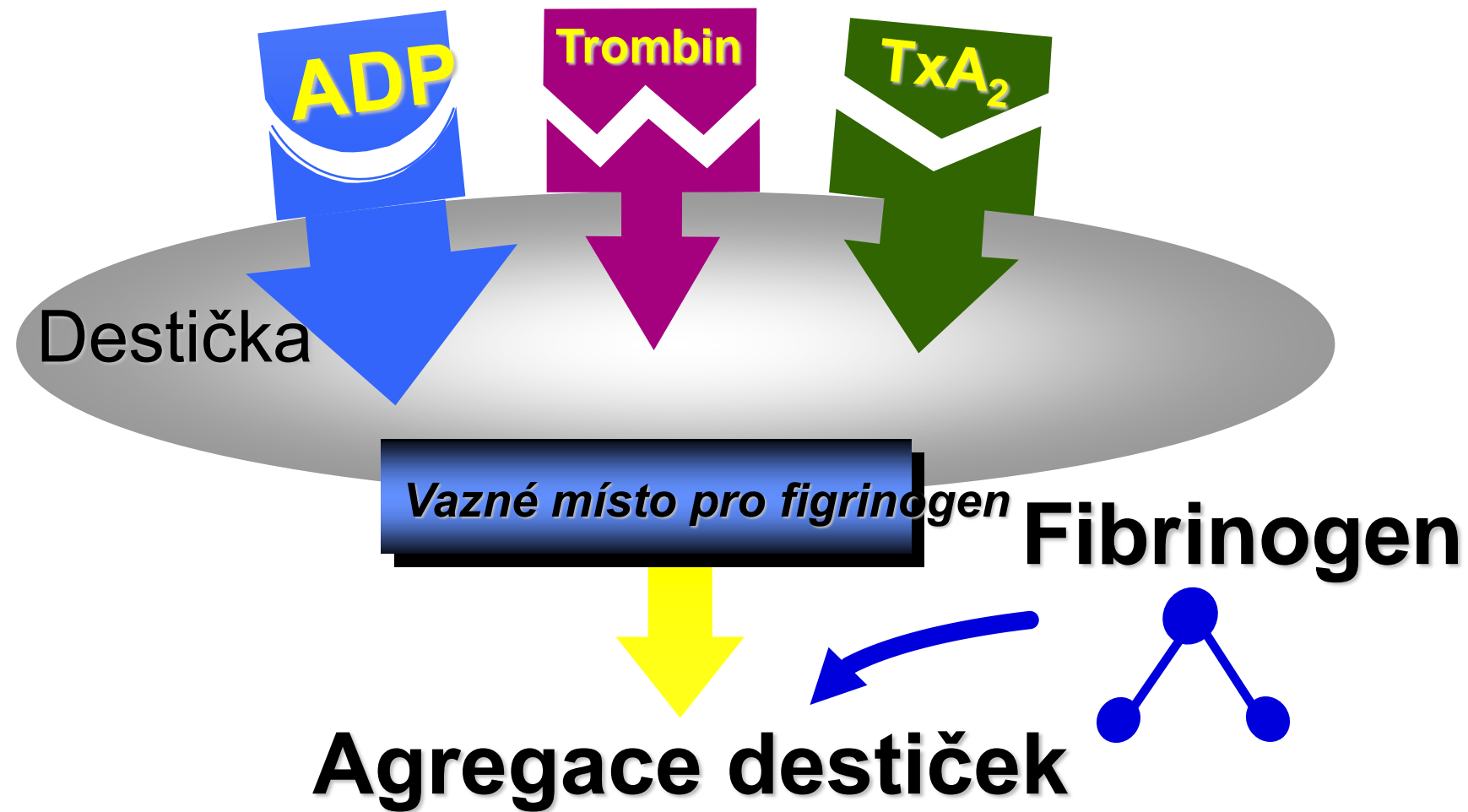


# Cesta aktivace destiček (1)





# Cesta aktivace destiček (2)

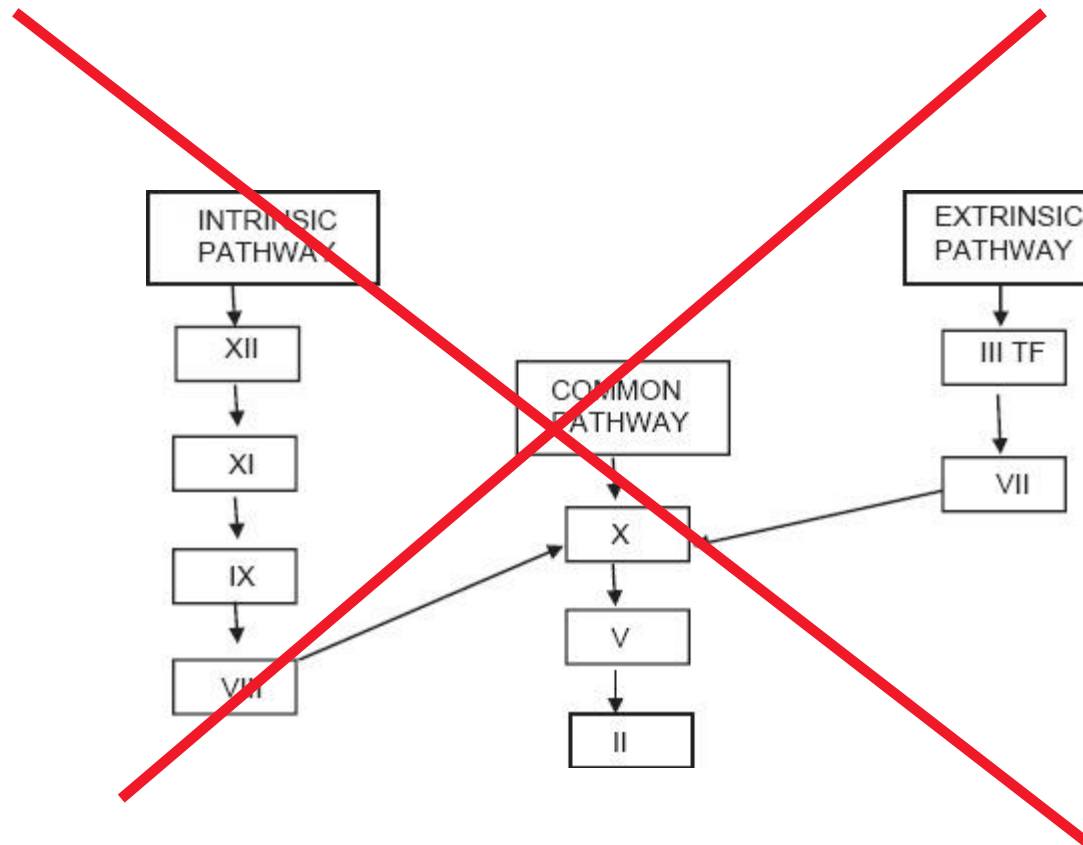


# Koagulační kaskáda

- Soubor reakcí proteáz zahrnující asi 30 různých proteinů.
- Tyto reakce vedou ke konverzi fibrinogenu jako solubilního proteinu na nerozpustný fibrin.
- Destičky a fibrin vytvářejí stabilní krevní zátku.

<b>Site</b>	<b>Thrombogenic</b>	<b>Antithrombogenic</b>
Vessel wall	Exposed endothelium	Heparin
	TF	Thrombomodulin
	Collagen	Tissue plasminogen activator
Circulating elements	Platelets	Antithrombin
	Platelet activating factor	Protein C and S
	Clotting factor	Plasminogen
	Prothrombin	
	Fibrinogen	
	vWF	

vWF – Von Willebrand factor; TF – Tissue factor

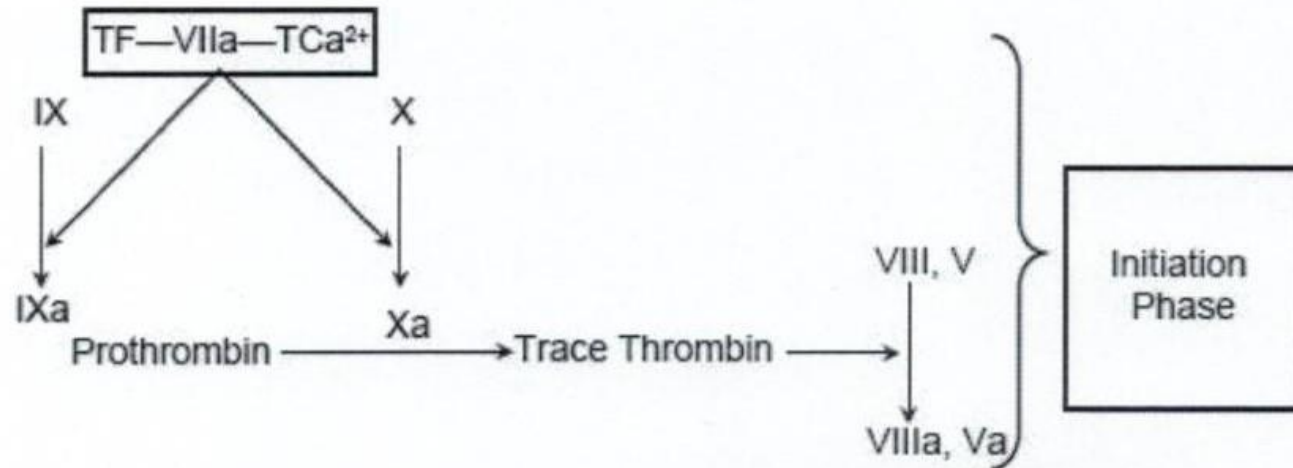


## Na buňkách založený model („cell-based model“)

- Tento model identifikuje membrány buněk vystavujících tkáňový faktor (TF) a povrch destiček jako místa aktivace specifických koagulačních faktorů.
- Tento model předkládá proces skládající se ze tří fází: iniciace, amplifikace a vlastní akce trombinu-tvorba zátky.
- **Iniciace** = tvorba komplexu TF-FVIIa, která vede k aktivaci malého množství trombinu.
- **Propagace** = aktivace destiček trombinem a tvorba komplexu FIXa-FVIIIa s následnou aktivací faktoru Xa.
- **Tvorba zátky** = tvorba protrombinázového komplexu a tvorba velkého množství trombinu, což vede k tvorbě zátky.

# Iniciační fáze koagulace

Figure 2

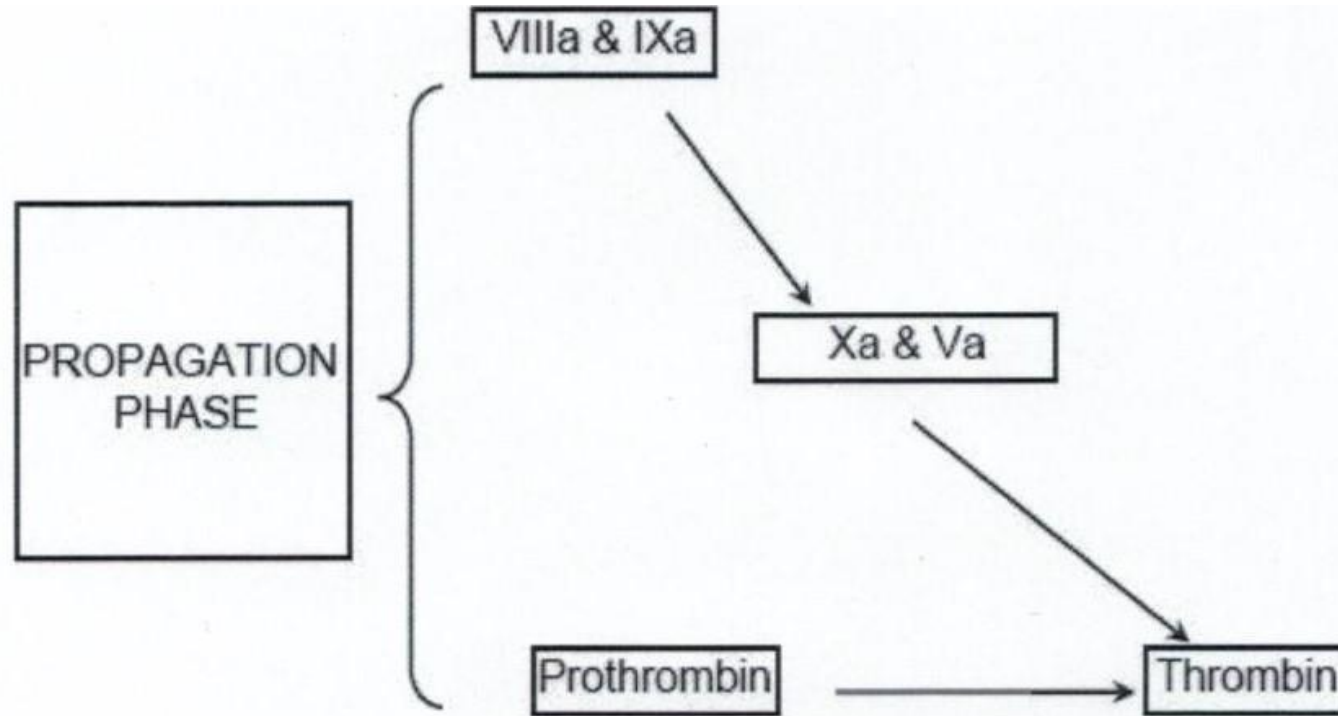


Current concept of coagulation (initiation phase)

# Iniciační fáze koagulace

- Koagulační kaskáda je aktivována, pokud defekt cévní stěny umožní krvi vejít v kontakt s buňkami s tkáňovým faktorem.
- Na membránu vázaný tkáňový faktor **TF** aktivuje **FVII na VIIa**, což vede k tvorbě **komplexu TF-VIIa**.
- Tento komplex vázaný na membránu destiček aktivuje **Faktor IX a Faktor X**.
- **Faktor Xa** konvertuje malé množství protrombinu (Faktor II) na trombin (Faktor IIa), který aktivuje Faktor V na FVa a Faktor VIII na FVIIIa.

# Propagační fáze koagulace



Current concepts of coagulation (propagation phase)







# Coagulation Cascade

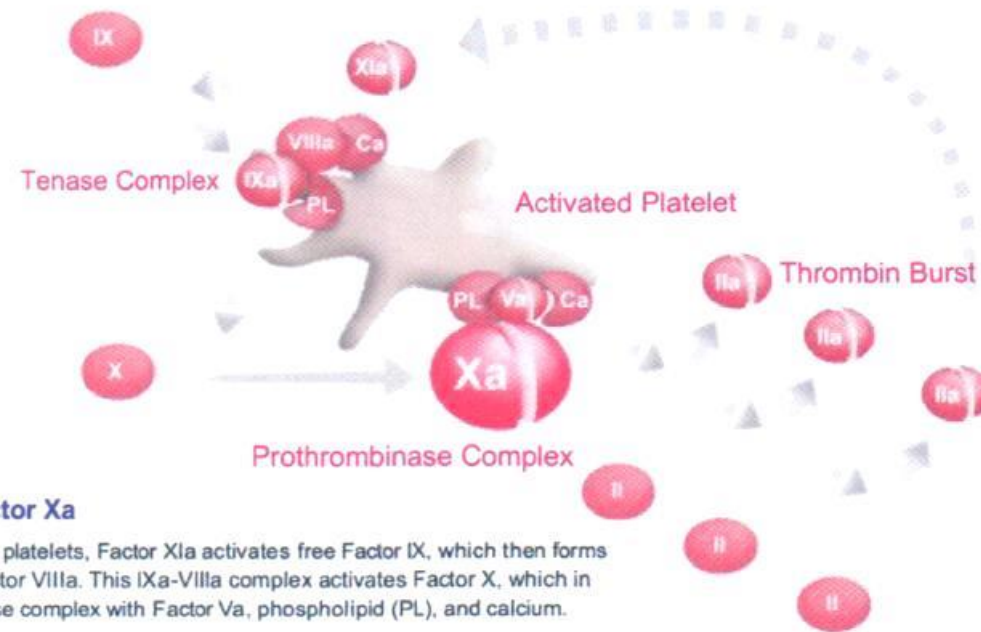
Text size [A](#) [A](#) [A](#)

- Coagulation Cascade
- Initiation Phase
- Propagation Phase
- Clot Formation
- Anticoagulation Drugs
- Natural Inhibitors
- Fibrinolysis

## Legend:

-  = inactive factor
-  = active factor
-  = transformation
-  = catalysis

## PROPAGATION



### The central role of Factor Xa

- On the surface of activated platelets, Factor XIa activates free Factor IX, which then forms the tenase complex with Factor VIIIa. This IXa-VIIIa complex activates Factor X, which in turn forms the prothrombinase complex with Factor Va, phospholipid (PL), and calcium.
- Factor Xa is the prime component of the prothrombinase complex, which converts large amounts of prothrombin (Factor II) to thrombin, described as the "thrombin burst". Each molecule of Factor Xa generates approximately 1000 molecules of thrombin.
- Thrombin amplifies the coagulation cascade through activation of Factor XI to Factor XIa.

# Propagace koagulace

- Na poškozeném povrchu cév se aktivuje faktor XII na **XIIa**. Ten aktivuje FXI na **FXIa** a ten dále FX na FXa.
- Na povrchu aktivovaných destiček aktivuje FXa volný faktor FIX na FIXa, což potom tvoří **tenázový komplex** s FVIIIa.
- Tento IXa-VIIIa komplex dále aktivuje FX na FXa, která spolu s FVa, fosfolipidy povrchu destiček a  $\text{Ca}^{++}$  vytváří **protrombinový komplex**.

# Propagace srážení: centrální role pro faktor Xa

- **Faktor Xa** společně s aktivovaným **Faktorem V (Va)** jako kofaktorem podporují srážení tvorbou trombinu (**Faktor IIa**) z protrombinu (**Faktor II**).
- **Faktor Xa** je primárním místem propagace tohoto procesu; jedna molekula **Faktoru Xa** katalyzuje tvorbu asi **1000 molekul trombinu**.

# Finální krok: tvorba fibrinu





- V konečném kroku série proteázových reakcí, které vedou k tvorbě krevní sraženiny, trombin vyvolá konverzi solubilního fibrinogenu na nesolubilní **fibrin**.
- **Thrombin** také aktivuje **Faktor XIII**, který stabilizuje sraženinu zkříženým provázáním fibrinu.
- Výsledný fibrin vychytává a zadržuje další celulární komponenty srážení (**destičky a erytrocyty**).

# Coagulation Cascade

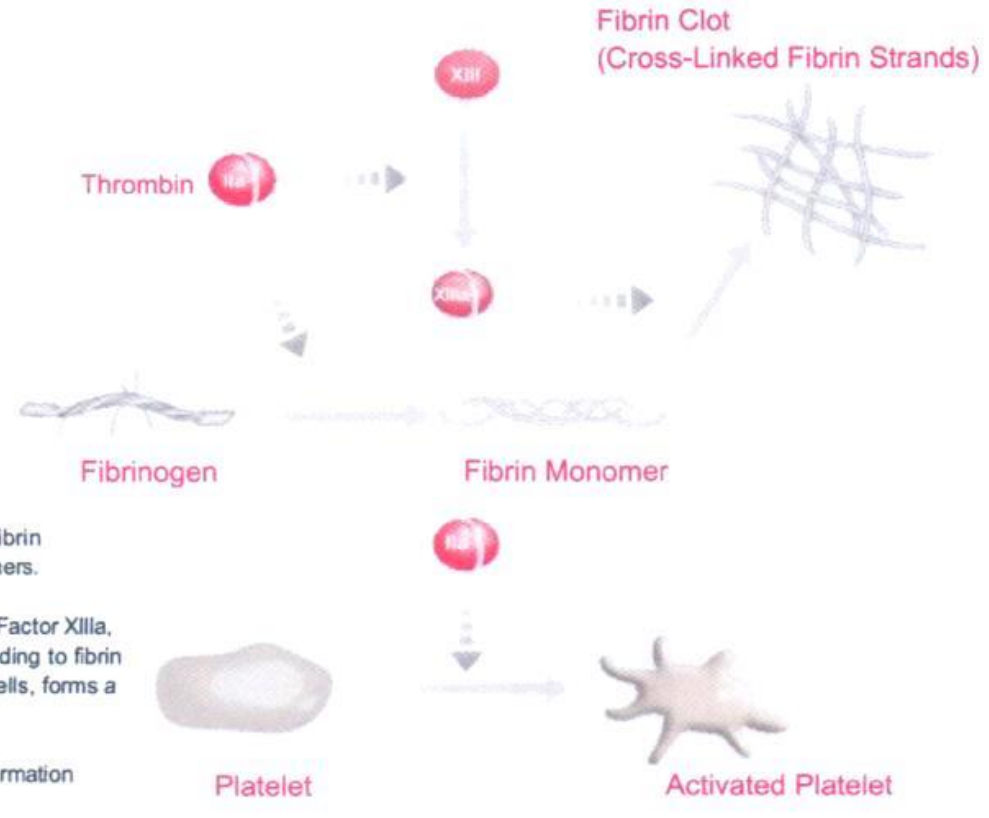
Text size [A](#) [A](#) [A](#)

- Coagulation Cascade
- Initiation Phase
- Propagation Phase
- Clot Formation
- Anticoagulation Drugs
- Natural Inhibitors
- Fibrinolysis

## Legend:

-  = inactive factor
-  = active factor
-  = transformation
-  = catalysis

## CLOT FORMATION



- Thrombin converts fibrinogen to fibrin monomers, which form fibrin polymers.

- Thrombin activates Factor XIII to Factor XIIIa, which cross-links fibrin strands, leading to fibrin scaffolding that, along with blood cells, forms a stable clot.

- Thrombin further promotes clot formation through activation of platelets.

# Fibrinolýza: znovustavení krevního průtoku cévou

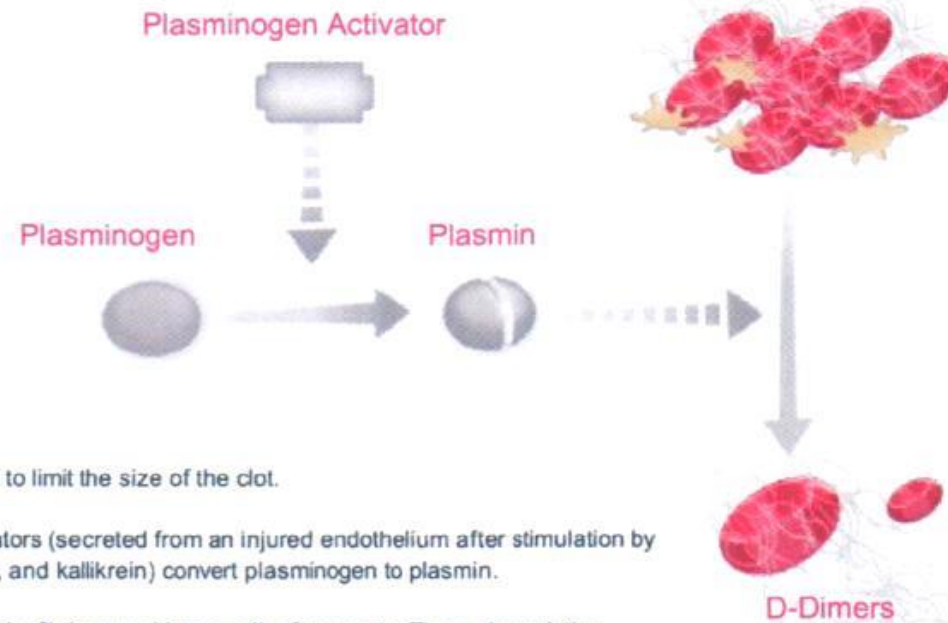
- Fibrinolýza je proces, během kterého je rozštěpen fibrin. Vede tedy k rozpuštění zátky.
- Plasminogen je prekurzor plasminu, který rozštěpí tyto fibrinové zátky.
- Během tvorby zátky jsou aktivátory plasminogenu inhibovány. Během tvorby zátky dochází k sekreci tkáňových aktivátorů plasminogenu endoteliálními buňkami, protože začíná proces obnovení strukturální integrity cévní stěny.
- Léky, které konvertují plasminogen na plasmin, se užívají k léčbě akutních, život ohrožujících trombotických nemocí.

# Coagulation Cascade





Text size [A](#) [A](#) [A](#)

- Coagulation Cascade
- Anticoagulation Drugs
- Natural Inhibitors
- Fibrinolysis

## FIBRINOLYSIS



### Legend:

-  = inactive factor
-  = active factor
-  = transformation
-  = catalysis

- Fibrinolysis serves to limit the size of the clot.

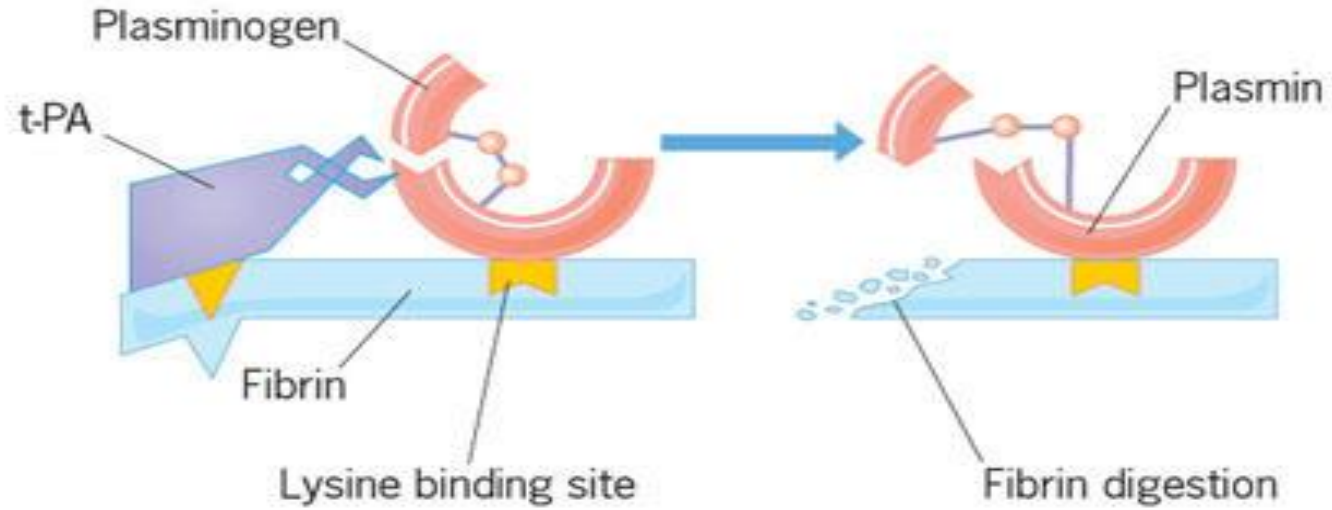
- Plasminogen activators (secreted from an injured endothelium after stimulation by thrombin, bradykinin, and kallikrein) convert plasminogen to plasmin.

- Plasmin breaks up the fibrin strand into smaller fragments. These degradation products can in turn inhibit thrombin and fibrin formation.

- D-dimers are end products of degradation and play a role as nonspecific markers for VTE.

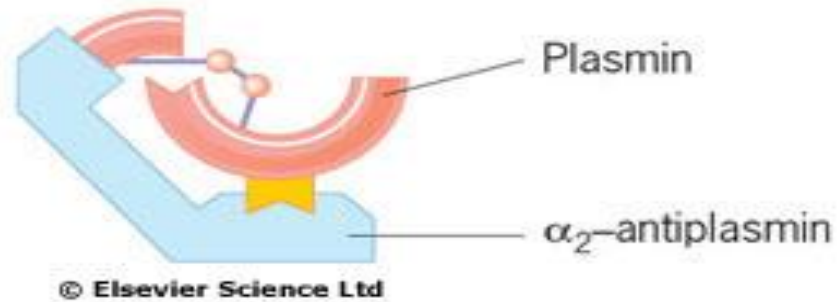


**(a) Conversion of plasminogen to plasmin**

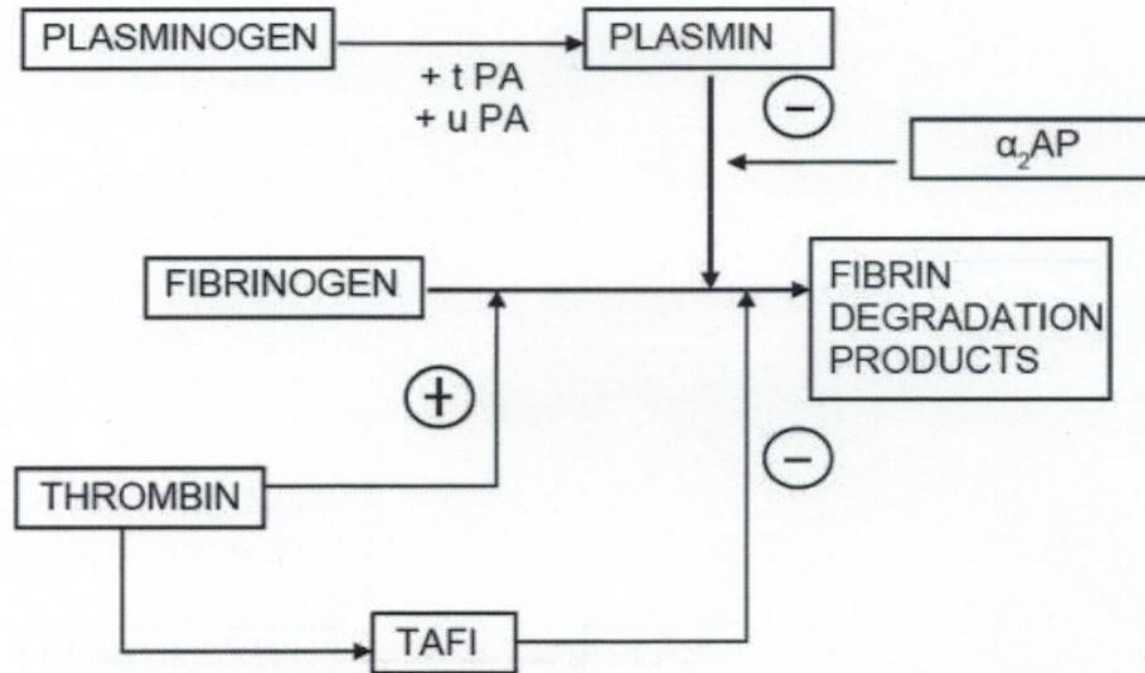


**(b) Plasmin  $\alpha_2$ -antiplasmin complex**

**Fibrinolýza**











Regulation of the fibrinolytic system

Articles from Indian Journal of Anaesthesia are provided here courtesy of Medknow Publications

# Coagulation Cascade

- Coagulation Cascade
- Anticoagulation Drugs
- Natural Inhibitors
- Fibrinolysis

### Legend:

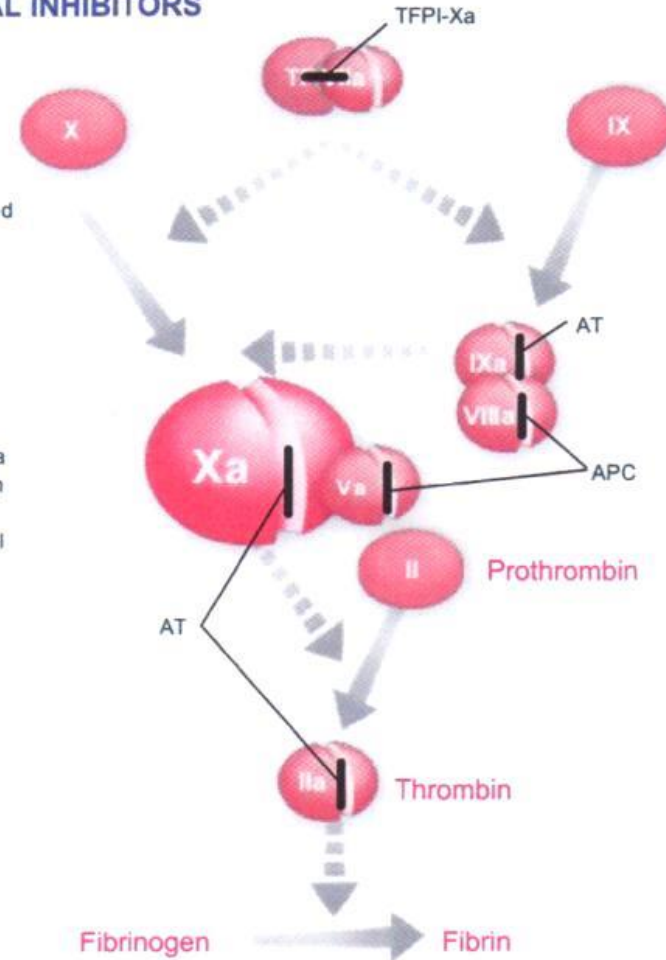
-  = inactive factor
-  = active factor
-  = transformation
-  = catalysis

**TFPI**  
Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) from endothelial and other cells forms a complex with Factor Xa to inactivate it. The TFPI-Xa complex then inactivates the membrane-bound TF-VIIa complex.

**APC**  
Activated protein C (APC) inactivates Factors Va and VIIIa with protein S as a cofactor. APC is converted from protein C by a complex of thrombin and thrombomodulin. Thrombomodulin is bound to the membranes of endothelial cells.

**AT**  
Antithrombin (AT) binds activated coagulant Factors (IIa, IXa, Xa, XIa and XIIa) that are not clot-bound or in the prothrombinase complex. AT is activated by endothelial heparan sulfate.

## NATURAL INHIBITORS



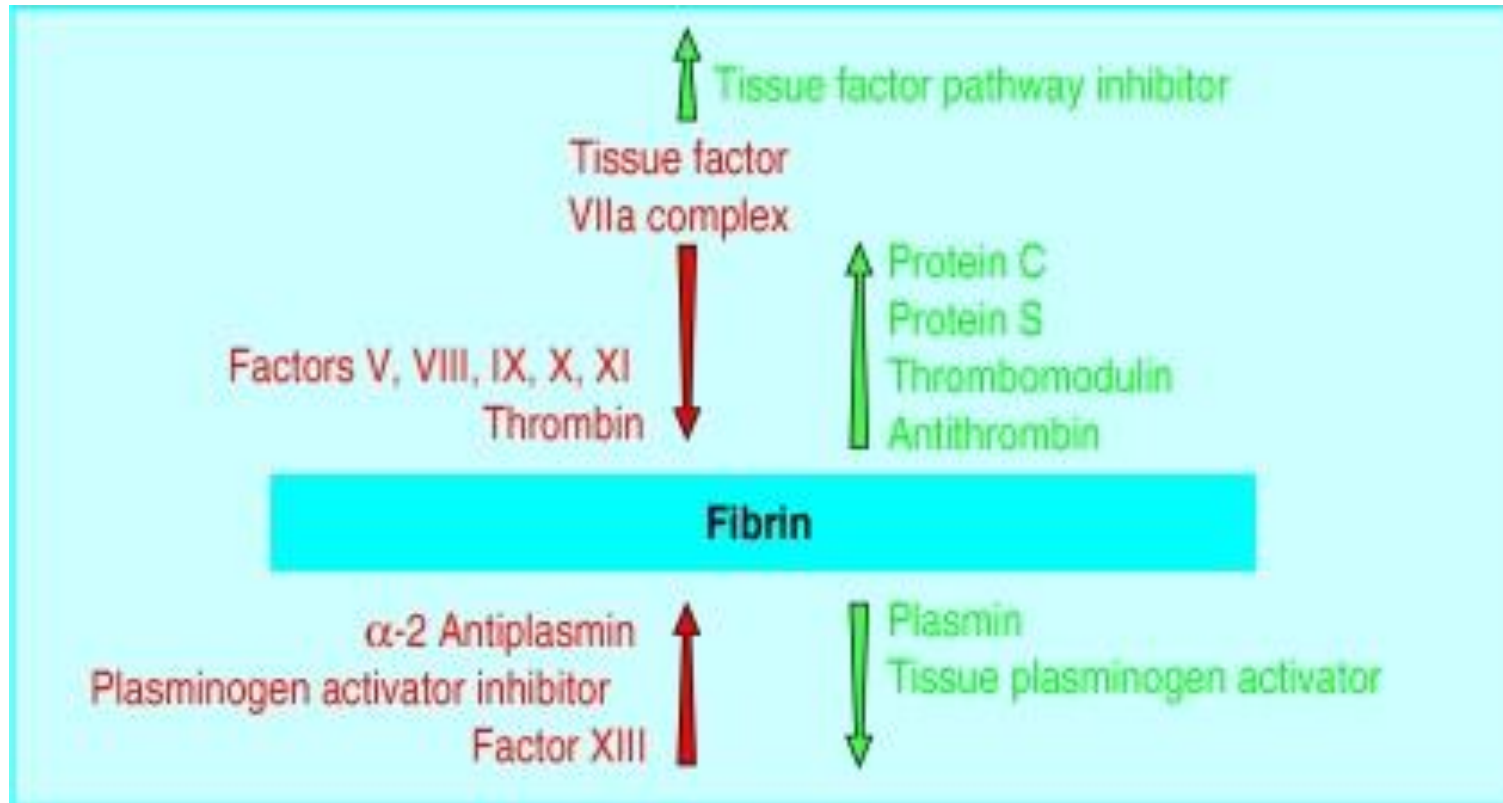
Text size A A **A**

# Přirozené inhibitory koagulace

- **Antitrombin** (dříve AT III) – vyvazuje aktivované vitamin K dependentní koagulační faktory (aktivován heparinem)
- „**Tissue factor pathway inhibitor**“ –produkován endoteliálními buňkami. Inhibuje TF-VIIa komplex
- „**Protein Z dependent protease inhibitor/ protein Z (PZI)**“  
produkován játry. Inhibuje FXa v přítomnosti PZ a  $Ca^{++}$

# Přirozené inhibitory koagulace

- **Cesta proteinu C** – vyvazuje aktivované proteiny Va a Vlla poté, co je aktivován trombinem, s proteinem S a fosfolipidy jako kofaktory.
- Skládá se ze 4 klíčových složek:
- **protein C (aktivovaný protein C = APC)**,
- **trombomodulin** (zabraňuje srážení na nepoškozeném endotelu vyvazováním trombinu),
- **receptor pro endoteliální protein C** (pomáhá aktivovat protein C),
- **protein S** – produkován endoteliálními buňkami. V krvi existuje volný (40%) a vázaný (60% ve vazbě na C4b-vazný protein). Volná forma pomáhá deaktivovat aktivované proteiny V a Vlll; vázaná forma funguje jako inhibitor komplementu a je upregulována u zánětlivých stavů, což redukuje hladiny proteinu S a to vede k prokoagulačnímu stavu.



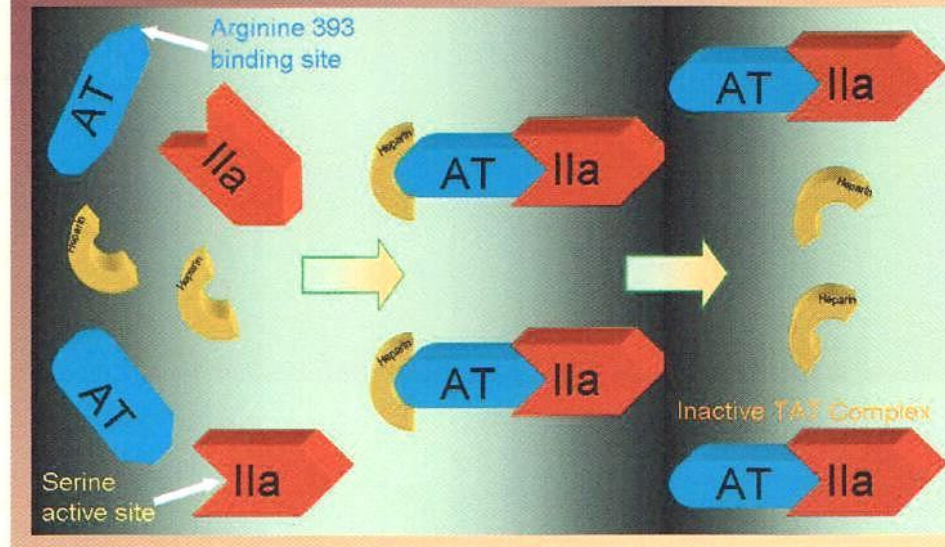


Antithrombin (AT) is a serine protease inhibitor (SERPIN) that inhibits factors XIa, IXa, Xa, FVIIa/TF, and Thrombin (IIa)

AT inhibitory activity is increased 1000 fold by heparin

Plasma half-life is 60-70 hours

## Antithrombin (and Heparin)





## Protein C

- Classification
  - Type I (quantitative)
  - Type II (qualitative)
- Relative risk for thrombosis ~6.5
- Onset of thrombosis is before middle age (<45 years)
- Homozygous deficiency is associated with neonatal purpura fulminans

Relative risk is ratio of the cumulative incidence rate in the exposed to the cumulative incidence rate in the non-exposed population

## Protein S

- PS either circulates freely as Free PS (40%) or bound to C4b-Binding Protein (60%)
  - Free form is active
  - C4b-BP is acute phase reactant
- Relative risk for thrombosis ~2 but difficult to predict since in some families the risk is substantial (possible interaction with other defects)

Type	PS Activity	Free PS Antigen	Total PS Antigen
I	Low	Low	Low
II	Low	Normal	Normal
III	Low	Low	Normal

# Acquired Deficiencies: PC, PS, AT

- Acquired deficiencies of Protein C and Protein S
  - Oral anticoagulants (warfarin) or Vitamin K deficiency
  - Liver disease
  - Post-operatively
  - Disseminated Intravascular Coagulation (DIC)
  - Consumption during an acute thrombotic event
  - PS also reduced in nephrotic syndrome and pregnancy
- Acquired deficiencies of Antithrombin
  - Heparin therapy
  - L-asparaginase therapy
  - Liver disease
  - Nephrotic syndrome



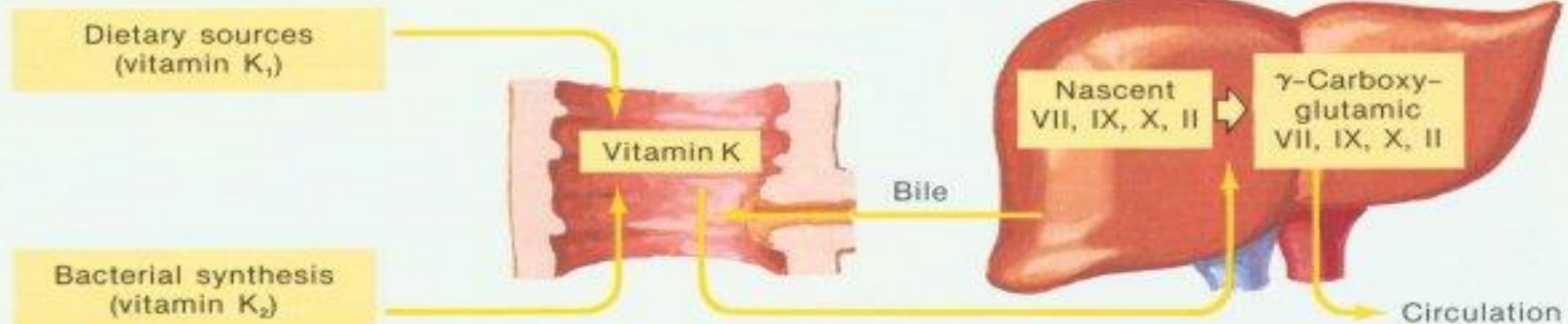
# Koagulační faktory

- **Neaktivované**-po syntéze v játrech
- **Postranslačně upravené** vitaminem K –vitamin K dependentní koagulační faktory = serin proteázy
- **Aktivované** –aktivované serin proteázy, další aktivované faktory (Va, VIIIa)

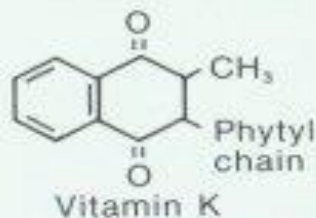
- Site for synthesis
  - All coagulation factors (except VWF)
  - Regulators of coagulation proteins (Antithrombin, Protein C, Protein S)
  - Fibrinolytic proteins (Plasminogen, Antiplasmin, Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor [TAFI])
- Site for carboxylation of vitamin K-dependent proteins
  - Procoagulant factors: II, VII, IX, X and anticoagulant proteins: Protein C, Protein S
  - Process allows these proteins to bind to cellular membranes and participate in macromolecular complex formation on these surfaces resulting in Thrombin formation
- Site for clearance
  - Activated coagulation factors, enzyme-inhibitor complexes (ie, thrombin-antithrombin complexes), & fibrin degradation products

# Synthesis of Vitamin K-Dependent Coagulation Factors

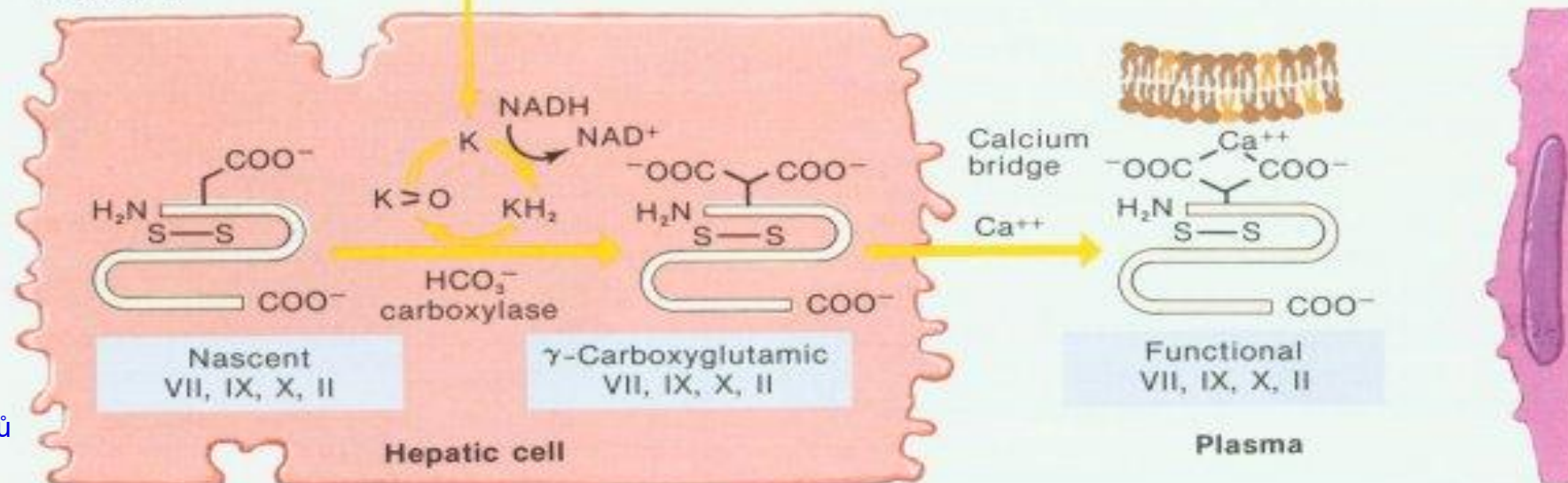
## Vitamin K absorption and metabolism



## Vitamin K mechanism of action



Synthesis of functional forms of VII, IX, X and II depends on vitamin K, the cofactor for a carboxylase enzyme that adds  $\gamma$ -carboxyl groups to glutamic acids in nascent coagulation proteins VII, IX, X and II



# Krvácivé nemoci vrožené

- Von Willebrandova nemoc
- Hemofilie A
- Hemofilie B
- Hemofilie C
- Deficit faktoru V
- Deficit faktoru VIII
- Deficit faktoru VII
- Deficit faktoru XIII
- Deficit protrombinu
- Afibrinogenémie

# Krvácivé nemoci získané

- Konsumpční koagulopatie
- DIC-diseminovaná intravaskulární koagulace
- Mikroangiopatické hemolytické anemie
- Deficit vitamínu K
- Nemoci jater



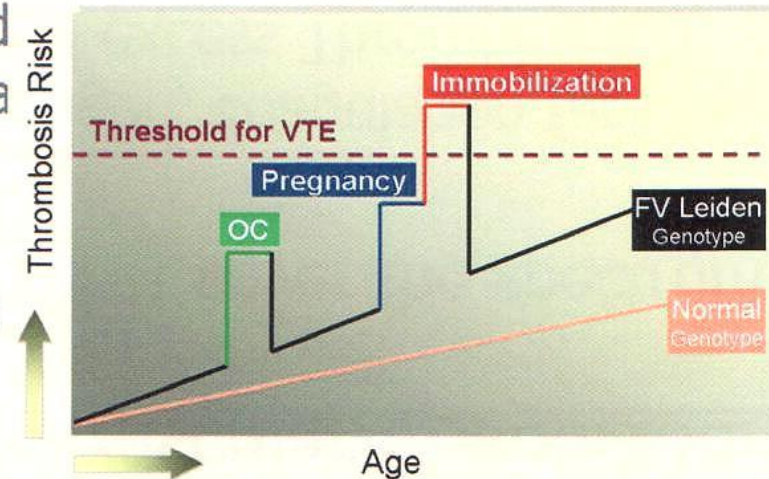
# Trombotické nemoci (trombofilie) vrozené

- Hereditární trombofilie
- Deficit AT III
- Deficit proteinu C
- Deficit proteinu S
- Faktor V Leiden
- Mutace v genu pro protrombin (20210)

# Trombotické nemoci (trombofilie) získané

- Sy antifosfolipidových protilátek
- Zvýšené hladiny faktorů VIII, IX, XI a fibrinogenu
- Defekty fibrinolýzy

- Tendency to develop thrombi in veins (venous thrombosis) or arteries (arterial thrombosis)
  - Thrombophilia in western countries is frequently used in the context of venous thrombosis
- Thrombosis is a complex (multicausal) disease in which many different pathways can contribute to the risk of developing disease
  - Singularly, inherited and acquired risk factors have may have only a moderate effect
  - Risk is greatly increased when two or more risk factors combine
    - Genetic and genetic
    - Genetic and environmental





- Risk factors for thrombosis - Disorders
  - Antiphospholipid Syndrome (APS)
  - Underlying malignancy
  - Pregnancy/postpartum
  - Heparin-Induced Thrombocytopenia (HIT)
  - Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)
  - Disseminated Intravascular Coagulation (DIC)
- Risk factors for thrombosis - Environmental
  - Stasis due to prolonged immobilization, obesity
  - High risk surgeries (orthopedic)
  - Trauma
  - Previous thrombosis
  - Oral contraception (OC) and hormone replacement therapy (HRT)

# Trombóza — častá a potenciálně život ohrožující situace

- Hraje roli během srdečních příhod, IM, kardioembolické příhody u pacientů s fibrilací síní a u venózního trombembolizmu (VTE).
- Posttrombotický syndrom a plicní hypertenze.
- Tromboprolaxe

# VTE: častá komplikace velkých ortopedických operací

- VTE nejčastější komplikace u náhrad kyčle a kolena.
- Nejčastější příčina reoperace

# DVT: hluboká žilní trombóza

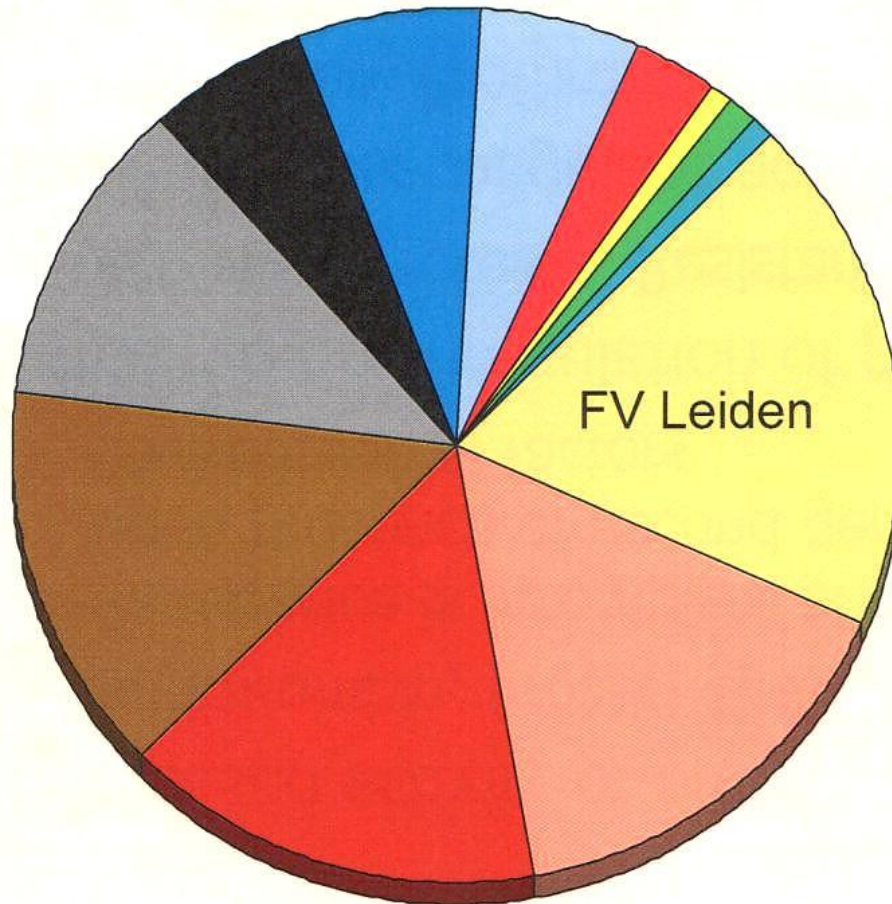
- Náhrada velkých kloubů
- Rakoviny
- Koagulopatie
- Dlouhodobá hospitalizace
  
- Velké riziko plicní embolizace
- ↓
- AIDS, rakovina prsu, prostaty, polytraumata způsobená dopravními nehodami

# Venous Thrombosis

- Venous system: low flow & pressure
- Thrombi are fibrin rich
- Function of age, biologic conditions, genetic & environmental factors, and their interactions
- Venous thromboembolism (VTE)
  - Deep vein thrombosis (DVT)
  - Pulmonary embolism (PE)
  - Superficial, portal, cerebral, or retinal vein thrombosis
- Reasons for coagulation testing
  - Risk for recurrence of thrombosis
  - Treatment considerations (duration & intensity)
  - Genetic counseling for affected family members
  - Prophylaxis for high risk situations



# Prevalence for Venous Thrombosis



- FV Leiden 20%
- Surgery/Trauma 16%
- FVIII (>150U/ml) 16%
- Immobilization 15%
- Malignancy 10-15%
- APS 2-14%
- HyperHyc 5-10%
- PT 20210 6%
- Protein C 3%
- Protein S 1%
- Antithrombin 1%
- Dysfibrinogenemia <1%

HyperHyc: Hyperhomocysteinemia



- Decreased activity of natural anticoagulants
  - Antithrombin, Protein C, and Protein S
  - Penetrance is incomplete and expression is dependent upon presence of second genetic defect and environmental factors
- Impaired downregulation of procoagulant activity
  - Activated Protein C Resistance (Factor V Leiden)
- Increased procoagulant activity of plasma proteins
  - Fibrinogen, Prothrombin (PT 20210), factors VIII, IX, XI
- Impaired fibrinolysis (weak association)
  - Plasminogen (deficiency), FXIII polymorphisms

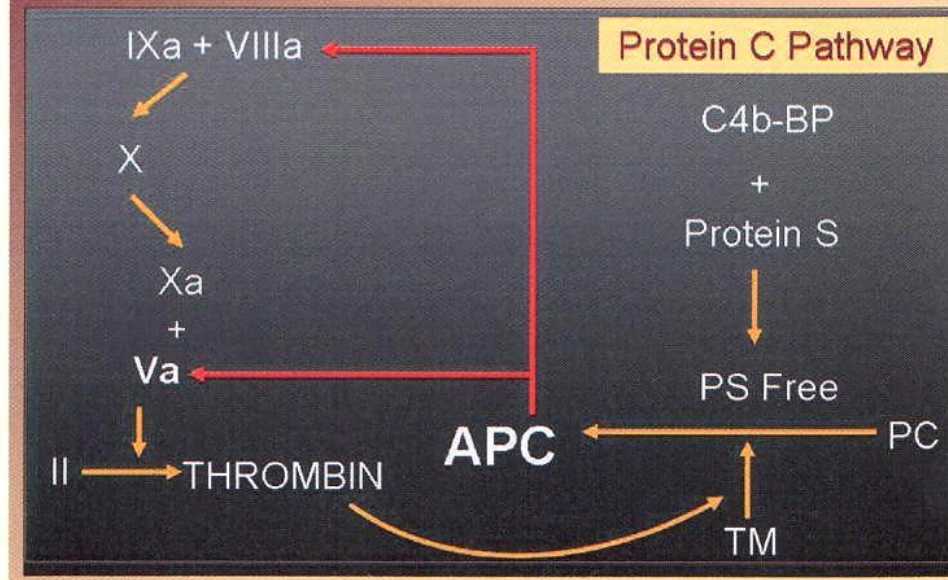


Protein C (PC) and Protein S (PS) are Vitamin K-dependent natural anticoagulants

Thrombin in the presence of Thrombomodulin (TM) “modulates” its own procoagulant activities to those of anticoagulant by activating PC, in the presence of its cofactor PS, to Activated PC (APC)

APC downregulates coagulation cofactors, VIIIa and Va

## Protein C and Protein S

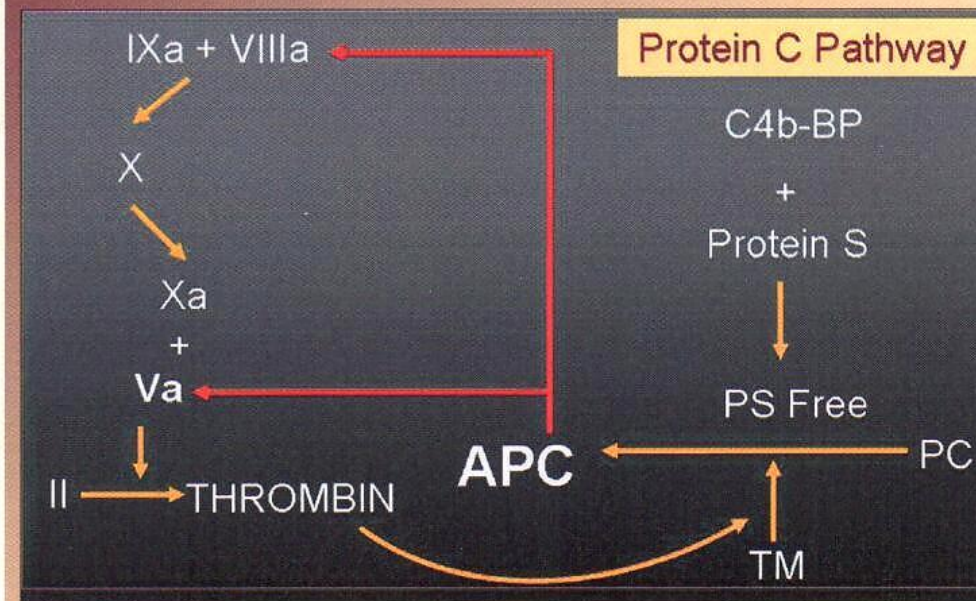




A single base mutation (guanine to adenine at position 1691 of the *FV gene*) is responsible for the Arg506Gln mutation known as FV Leiden

Phenotype is characterized by a reduced anticoagulant response to APC (FV Leiden is inactivated 10 fold slower than normal FV)

## Activated Protein C Resistance (APCR) Factor V Leiden



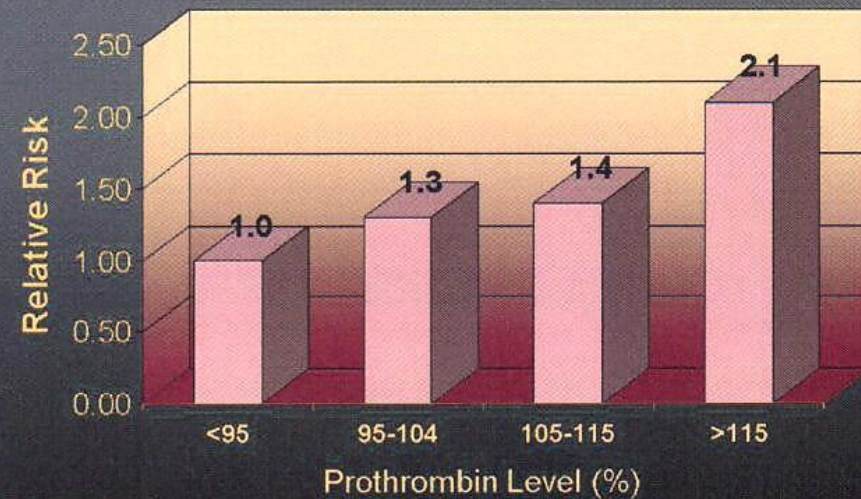


Polymorphism (adenine substituted for guanine at nucleotide 20210) in the 3'-untranslated region of the gene encoding for Factor II (Prothrombin)

Patients heterozygous for the mutation have elevated levels of Prothrombin but activity levels can not be used to exclude genetic defect

## Prothrombin 20210

Factor II Levels and Thrombosis



Poort et al. Blood 1996;88:3698-3703

# Heparin/LMWH—rizika

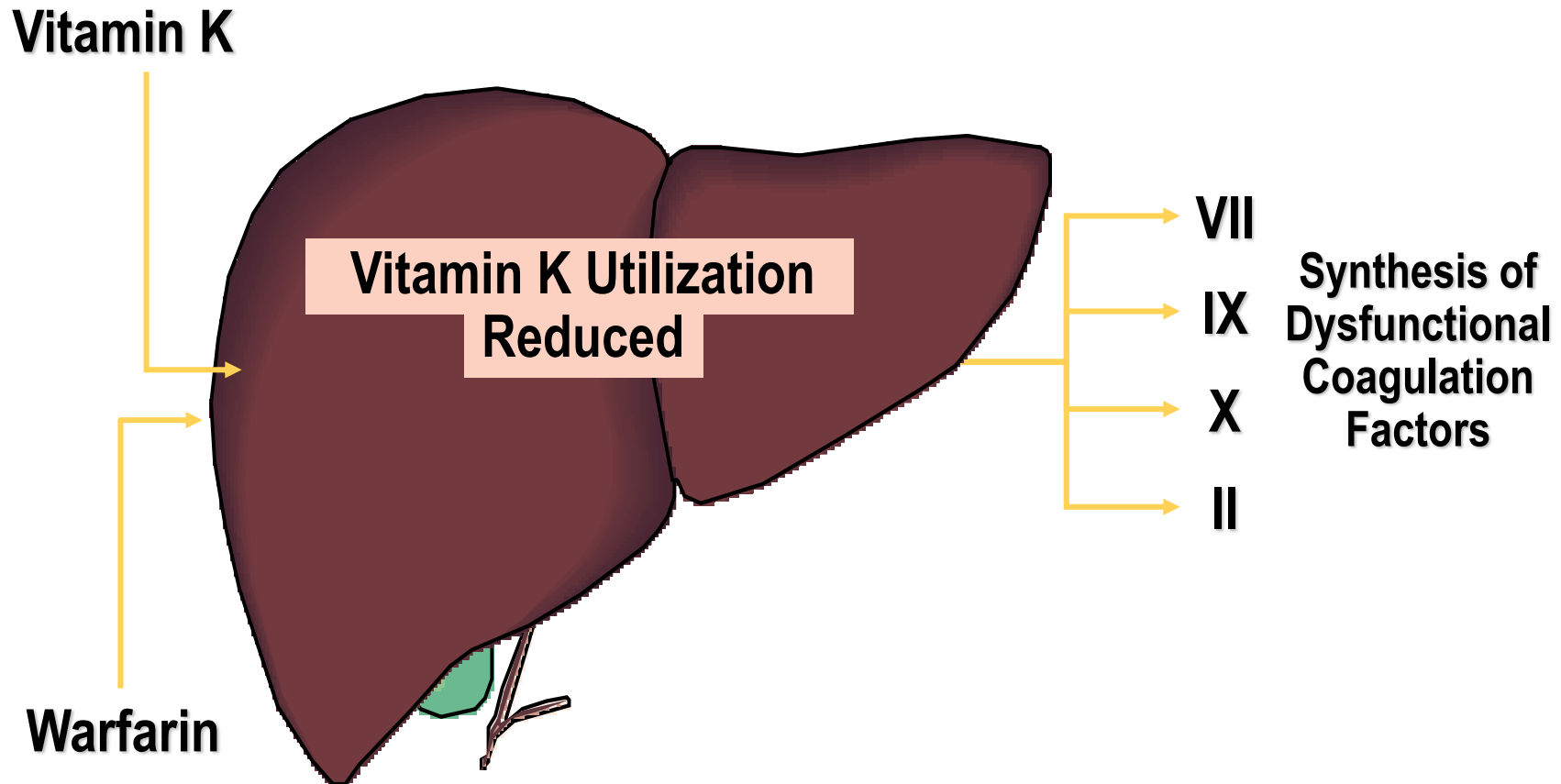
- Heparin
  - Krvácení
  - Trombocytopenie
  - Osteoporóza (vitamin K2)
  - Hypersenzitivita
- LMWH („Low Molecular Weight“ Heparin)
  - Krvácení
  - Trombocytopenia
  - Hypersenzitivita

# LMWH

- LMWH je eliminován zejména ledvinami, což je riziko pro pacienty s postižením ledvin.
- LMWH se získává z vysoce sulfátovaného polysacharidu z prasečí slizniční tkáně. Depolymerizací tohoto substrátu vzniká směs fragmentů LMWH o délce 6-22 cukernatých zbytků.



# Warfarin—Mechanismus účinku



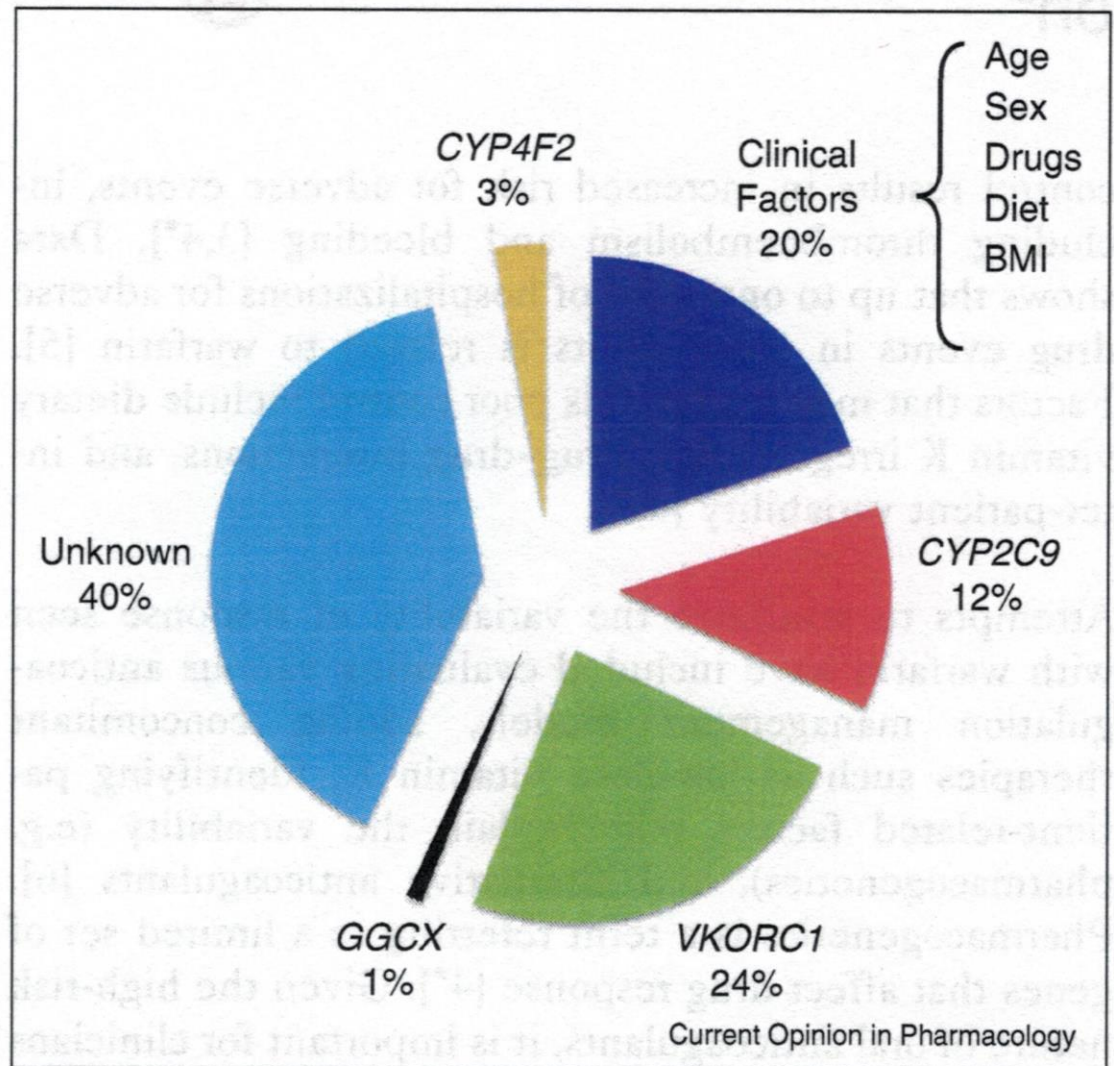
# Warfarin—nežádoucí efekty

- Fatální nebo nefatální tkáňové nebo orgánové krvácení
- Nekróza kůže nebo dalších orgánů
  - Systémová cholesterová mikroembolizace
  - Alopecie
  - Purple toes syndrome, urticaria, dermatitis including bullous eruptions

# Vitamin K a vaskulární kalcifikace

- U pacientů s chronickým onemocněním ledvin a s end-stage chronickým renálním selháním je typický výskyt renální osteodystrofie a akcelerované aterosklerózy.
- Vitamin K a vitamin K-dependentní proteiny hrají zásadní roli v prevenci ektopické kalcifikace: jsou to zejména osteokalcin (regulující mineralizaci kostí) a matrix-Gla protein (MGP, místní inhibitor kalcifikace cévní stěny). Deficit vitamínu K (warfarin?) mění jejich fyziologickou funkci a zřejmě zodpovídá za demineralizaci kostí a následnou kalcifikaci cévní stěny (tzv. kalcifikační paradox). Z tohoto důvodu riskantní dlouhodobá aplikace warfarinu u pacientů s chronickým renálním onemocněním, chronickým renálním selháním (dialýza).

Figure 1



[Curr Opin Pharmacol](#). 2016 Apr;27:38-42.  
doi: 10.1016/j.coph.2016.01.008. Epub 2016  
Feb 15.

Factors affecting warfarin dose requirements. BMI, body mass index; CYP, cytochrome P-450; GGCx, gamma glytamyl carboxylase; VKOR, vitamin K epoxide reductase



# Nová orální antikoagulancia (NOAC)

**Table 1**

**Pharmacokinetics and reversal of new oral anticoagulants**

	Dabigatran	Apixaban	Rivaroxaban	Edoxaban
Mechanism	Direct factor IIa inhibitor	Direct factor Xa inhibitors		
$t_{max}$ (hours)	1–3	2–3	2–4	1–2
Protein bound	35%	87%	95%	20%
Vd (L)	60	21	50	300
Excretion	Renal	Renal/hepatic	Renal/hepatic	Renal
T1/2 (hours)	12–17	8–15	9–13	8–10
Dialyzable	Yes	No	No	No
Drug interaction	P-gp inhibitors	P-glycoprotein inhibitors &/or CYP3A4 inhibitors		P-gp inhibitors
Monitoring	Thrombin clotting time Ecarin clotting time <sup>a</sup>		Anti-Xa activity <sup>b</sup>	
FFP	Not effective		Not effective	
PCC	Partially effective? <sup>c</sup>		Partially effective? <sup>c</sup>	
Target reversal	Idarucizumab Aripazine		Andexanet alfa Aripazine	

<sup>a</sup> Normal TT or aPTT suggests a low plasma dabigatran level.

<sup>b</sup> Prothrombin time is prolonged, but depends on reagents used.

<sup>c</sup> Activated PCC may be more effective, but there are no large-scale clinical trials, and there is a potential risk of thrombosis.

# Koagulační testy

- Screeningové testy
- Krvácivost
- Počet destiček
- Protrombinový čas Quickův (PT)
- Parciální tromboplastinový čas (PTT)
- Trombinový čas (TT)
- Specifické testy



# Sampling

- Venous blood
- Excessive stress and exercise cause changes in blood clotting and fibrinolysis.
- Whenever possible, venous samples should be collected without a pressure cuff (to avoid haemoconcentration, increase of fibrinolysis, platelet release, and activation of some clotting factors).
- To minimize the effect of contact activation plastic or polypropylene, siliconized glass, syringes and containers should be used.
- Thoroughly mixing the blood with the anticoagulant by inverting the containers several time.
- The sample should be brought to the laboratory as soon as possible.
- Labeling the patient sample is very important.

# Sampling

- Anticoagulant trisodium citrate 3.2 % in a ratio of 1 : 9.
- Time of sample collection is very important factor in the interpretation of results.
- Centrifugation and preparation of platelets poor plasma - 4000 rpm in a cooling centrifuge.
  - **P.T & Factor VII → kept at room temperature.**
  - **Other assays → at 4°C.**
- Testing should preferably be completed within 2 hours of the collection.

# BLEEDING TIME (=krvácivost)

- Time taken for bleeding to cease from a small superficial wound
- Affected by
  - Platelet count and function
  - Vessel wall
  - Normal range Ivy's method: 2-7 min

# PLATELET COUNT

- Normal platelet count =  $150-400 \times 10^9/L$
- A part of complete blood picture (CBC)
- Performed by electronic counters or manually (inherent error)

# PROTHROMBIN TIME

- Indicates the overall efficiency of pathway of blood coagulation (FVII, FII, FV, X)
- Normal range: 10-14 sec

# PROTHROMBIN TIME

- Causes of prolonged PT
  - Deficiency of coagulation factors (coagulation factors related to FVII)
  - Liver disease
  - Vit K deficiency (FII, V, VII, IX are Vit k dependent)
  - DIC
  - Oral anticoagulants



# PARTIAL THROMBOPLASTIN time

- Indicates the overall efficiency of pathway of blood coagulation (FVIII, FIX, FXI, FXII, FII, FV, X)
- Normal range: 30-40 sec

# PARTIAL THROMBOPLASTIN time

- Causes of prolonged PTT
  - Deficiency of coagulation factors (coagulation factors other than FVII)
  - Liver disease
  - DIC
  - Massive transfusion (labile FV, FVIII)
  - Heparin

# PT & PTT

- Prolonged PT + normal PTT= pathway defect related to FVII
- Prolonged PTT + normal PT= pathway defect related to intravascular factors
- Prolonged PT and PTT= common pathway defect or combined factor deficiencies

# Nemoci spojené s krvácením

- Abnormální krvácení je způsobeno
  - Vaskulárními nemocemi
  - Trombocytopenií ( ↓ počtu destiček)- kvantitativní defekt
  - Defektem funkce destiček (kvalitativní defekt)
  - Koagulačními nemocemi

# Vaskulitidy

- Typy krvácení: purpura
- Příčiny.....
  - Screening tests for hemostasis:
    - BT: **prolonged**
    - Platelet count: normal
    - - PT, PTT, TT: normal



**Table 8.22**

**Vascular disorders**

**Congenital**

Hereditary haemorrhagic telangiectasia  
(Osler-Weber-Rendu disease)

Connective tissue disorders (Ehlers-Danlos syndrome, osteogenesis imperfecta, pseudoxanthoma elasticum, Marfan's syndrome)

**Acquired**

Severe infections:

Septicaemia

Meningococcal infections

Measles

Typhoid

**Allergic**

Henoch-Schönlein purpura

Autoimmune disorders (SLE, rheumatoid arthritis)

**Drugs**

Steroids

Sulphonamides

**Others**

Senile purpura

Easy bruising syndrome

Scurvy

Factitious purpura

# Trombocytopenie

– Počet destiček pod  $150 \times 10^9/L$

– Příčiny:

Vrozené

Získané

▪ snížení produkce

▪ zvýšená destrukce (*ITP*)

▪ splenická sekvestrace (*hypersplenism*)

**Table 8.24**  
**Causes of thrombocytopenia**

<b>Impaired production</b>	<b>Excessive destruction</b>
<p><b>Bone marrow failure</b>  Megaloblastic anaemia  Leukaemia  Myeloma  Myelofibrosis  Solid tumour infiltration  Aplastic anaemia      drugs      chemicals      viruses      paroxysmal nocturnal      haemoglobinuria</p>	<p><b>Immune</b>  AITP  Secondary immune (SLE, CLL,      viruses, drugs, e.g. heparin)  Alloimmune neonatal      thrombocytopenia  Post-transfusion purpura</p> <p><b>Sequestration</b>  Hypersplenism</p> <p><b>Dilutional</b>  Massive transfusion</p> <p><b>Other</b>  Disseminated intravascular coagulation  Thrombotic thrombocytopenic purpura  Haemolytic uraemic syndrome</p>

# Idiopatická trombocytopenická purpura (ITP)

- **ITP** je imunní trombocytopenie způsobená tvorbou protilátek proti destičkám a bazální membráně megakaryocytů.
- **klinický obraz**: spontánně krvácející purpurické erupce.
- **BT**: prolonged
- **Platelet count**: thrombocytopenia
- **PT, PTT**: normal
- **BM**: increased megakaryocytes with poor platelet separation

# Kvalitativní destičkové defekty

- Defekt funkce a normální počet
- Příčiny:
  - Hereditární (Glanzmannova nemoc, syndrom Bernard-Soulierův)
  - Získané (léky jako *aspirin*, uremia)



# Kvalitativní defekty destiček

- **Klinický obraz:** spontánní krvácející purpurické erupce (kůže sliznice)
- **BT:** prodloužený
- **Platelet count:** normální nebo lehce snížený
- **PT, PTT, TT:** normální
- **Destičková funkce:** abnormální, v závislosti na defektu

# Nemoci s poruchou koagulace

## – Vrozené

- Hemofilie A
- Hemofilie B
- Von Willebrandova nemoc

## - Získané

- Nemoci jater
- DIC
- inhibitory

# Hemophilia A and B

- Inheritance is X-linked
- Severity of bleeding depends on levels of FVIII or FIX
  - Mild: activity levels between 5-25%
    - Have significant bleeding after major trauma or surgery but generally go undetected until abnormal APTT is found
  - Moderate: activity levels between 2-5%
    - Bleeding is precipitated by trauma or surgery
  - Severe: less than 1% activity
    - Present with recurrent hemorrhages that occur spontaneously or after minor trauma/surgery
- Clinical presentation
  - 90% of bleeding episodes occur into the joints (knees and elbows predominantly)
  - Intramuscular, intracranial, & gastrointestinal

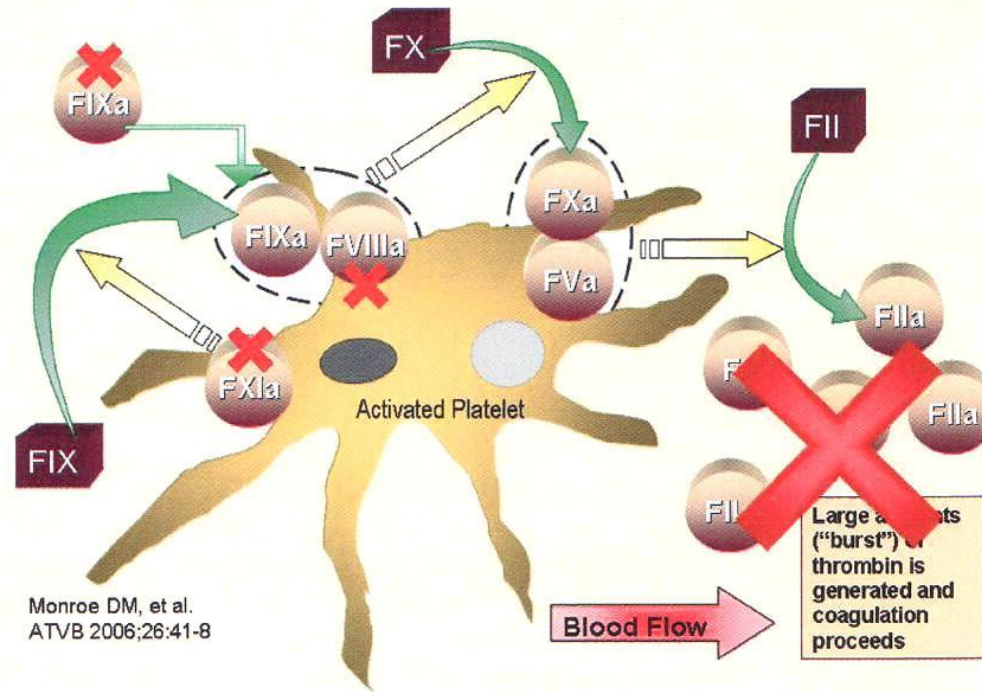


[www.macmed.ttuhscc.edu](http://www.macmed.ttuhscc.edu)

# The Defect in Hemophilias

Hemophilia A (FVIII), Hemophilia B (FIX), and Hemophilia C (FXI) are disorders of the Propagation Phase of coagulation

Thrombin is initially generated via the TF/FVIIa Initiation Phase however, the large amounts of Thrombin necessary for adequate secondary hemostasis are not generated

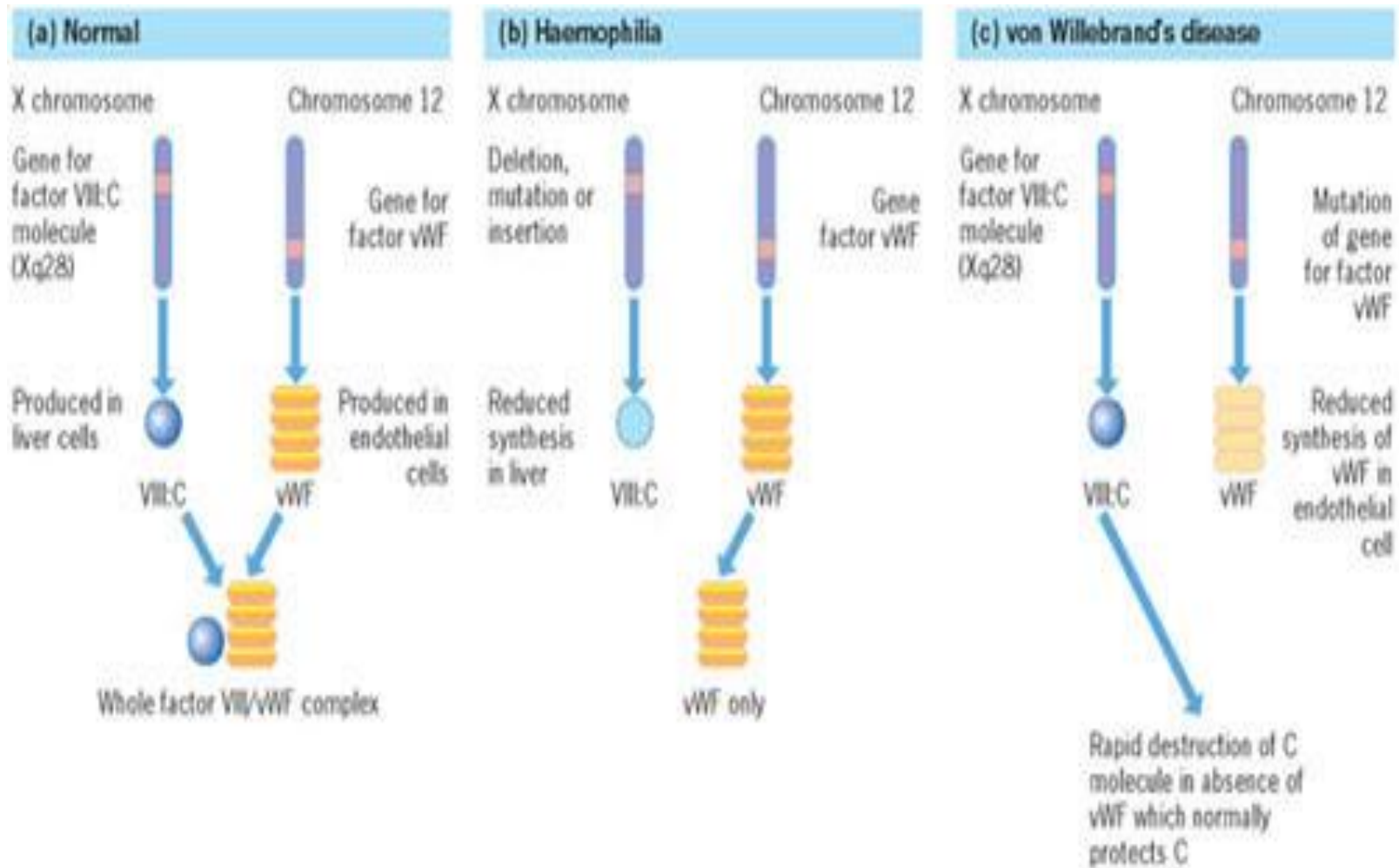


× = Defect

# Hemofilie A

- Nemoc vázaná na X-chromosom
- Kvantitativní nebo kvalitativní nemoc faktoru VIII
- Screeningové testy:
  - BT: normální
  - Platelet count: normální
  - PT: normální
  - PTT: prolonged
- Specifický test: FVIII assay: snížená aktivita





(a) Factor VIII synthesis.

(b) Hemofilia A has a defect synthesis of VIIIc.

(c) von Willebrand's disease has a reduced synthesis of vWF

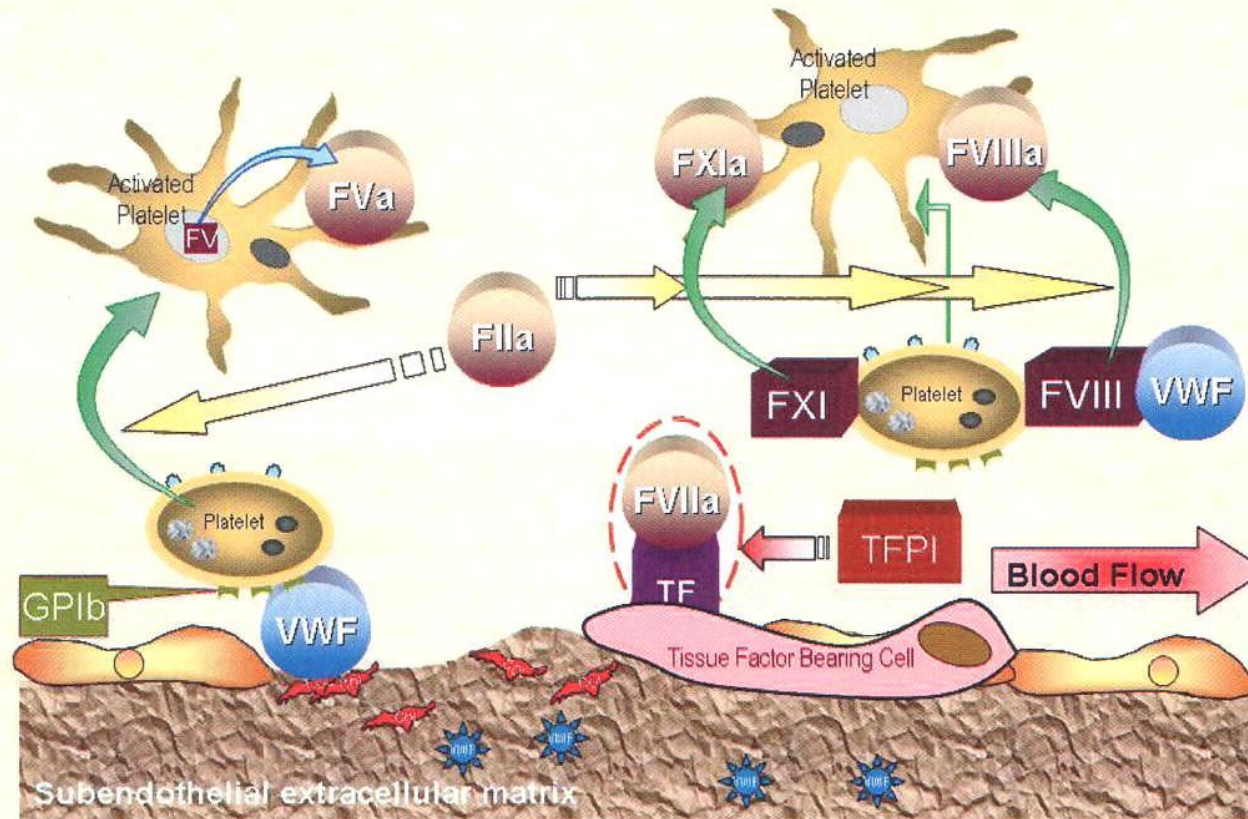


# Hemofilie B

- Ve srovnání s hemofilií A
  - Méně častá
  - Stejně příznaky
  - Stejně výsledky screeningových testů
  - **Specifický test: FIX assay: snížená aktivita**

# Von Willebrand Factor Roles

Primary Hemostasis  
(Adhesion step)



Secondary Hemostasis  
(Amplification and Propagation phases)

Adapted from: Monroe DM, et al. ATVB 2006;26:41-8

## Von Willebrand Disease (VWD)

- Most common bleeding disorder in humans
- Autosomal inheritance
- ~ 0.8 - 1.3% of population has a detectable, inherited defect in Von Willebrand Factor (VWF)
  - Low VWF levels, bleeding, and family history (the “holy” three)
- Types of bleeding
  - Mucocutaneous bleeding
    - Epistaxis, menorrhagia, ecchymoses & hematomas, gingival and gastrointestinal bleeding
    - Results from defect in primary hemostasis
  - Soft tissue bleeding (after trauma/injury)
    - Dental extraction, wounds, post-operatively, post-partum
    - Results from defect in secondary hemostasis
      - VWF is carrier (protector) protein for FVIII

# Von Willebrandova nemoc

- Autosomálně dominantní
- Kvantitativní nebo kvalitativní problém vWF
- Von Willebrandův faktor funguje jako nosič pro Faktor VIII
- Sám funguje jako podstatný kofaktor destičkové adheze a agregace.

# Von Willebrand Disease

- Screening tests:
  - BT : prolonged.
  - Platelet count: normal
  - PT: normal
  - PTT: prolonged
- Specific tests:
  - Platelet aggregation: defective with ristocetin
  - FVIII assay: decreased activity
  - vWF antigen : reduced





## Acquired Causes for Bleeding

- Liver Disease
- Immune coagulopathies
  - Inhibitors have been described to each of the coagulation factors
- Disseminated intravascular coagulation (DIC)
- Pharmacologic overdosing
- Primary fibrinogenolysis
  - Plasmin acts on fibrinogen
- Acquired platelet defects due to
  - Uremia, myeloproliferative disorders, antiplatelet antibodies, drugs that inhibit platelet function (administered in excess)



# DIC (disseminated intravascular coagulation)

Uvolnění tkáňového faktoru, **TF**.

TF je exprimován na mnoha typech buněk (endoteliální, makrofágy, monocyty).

Kontakt s krví po poškození cévní stěny (efekty cytokinů a endotoxinů).

TF se váže na koagulační faktory, což vede k jejich aktivaci.

# Diseminovaná intravaskulární koagulace=DIC

- V důsledku extenzivní koagulace a fibrinolýzy dochází k vyčerpání koagulačních faktorů s masivním krvácením do intersticia.
- Příčiny: infekce, malignity, porod, porodnické komplikace, nemoci jater

# DIC - etiopatogeneze

- Významná role „**damage associated molecular patterns**“ (DAMPs): na základě buněčné aktivace nebo smrti hemopoetických a parenchymálních buněk dochází k uvolnění extracelulární volné DNA a proteinů, které se váží na DNA (např. histonů a „high mobility group box 1 proteinů“ [HMGB1]) do cirkulace. Tento proces je vysoce regulován mimo jiné **serin proteázami**, jako je „factor VII-activating protease“ (FSAP) a DNase1.

# DIC - etiopatogeneze

- Circulující cell-free DNA je schopna indukovat destičkovou agregaci, podporovat aktivaci sekundární hemostázy, inhibovat fibrinolýzu a přímo interferovat se stabilitou trombů.
- Cell-free DNA ve tkáni nebo uvolňovaná do cirkulace po aktivaci neutrofilů ve formě neutrofilních extracelulárních „traps“ (NETs) jsou silně cytotoxické a prokoagulační.
- Také na DNA se vážící proteiny jako histony a HMGB1 jsou silně prokoagulační a účastní se v patogeneze DIC.

# Diagnóza DIC

- BT (bleeding time=krvácivost): prolonged
- Platelet count: decreased
- PT (prothrombin time): prolonged
- PTT (partial prothrombin time): prolonged
- TT (thrombin time): prolonged
- Fibrinogen level: reduced
- FDPs (D dimer): increased
- Red cell fragmentation in the blood film

	BT	PT	PTT	Platelet count	Platelet function	Other tests
ITP	P	N	N	↓		
Glanzman	P	N	N	N	Defect agreg	
Hemof A	N	N	P	N		FVIII assay
Hemof B	N	N	P	N		FIX assay
vWD	P	N	P	N	Defect agreg	FVIII, vWF
DIC	P	P	P	↓		Fibrinogen FDPs – D- dimery



Děkuji vám za pozornost



M U N I

M E D