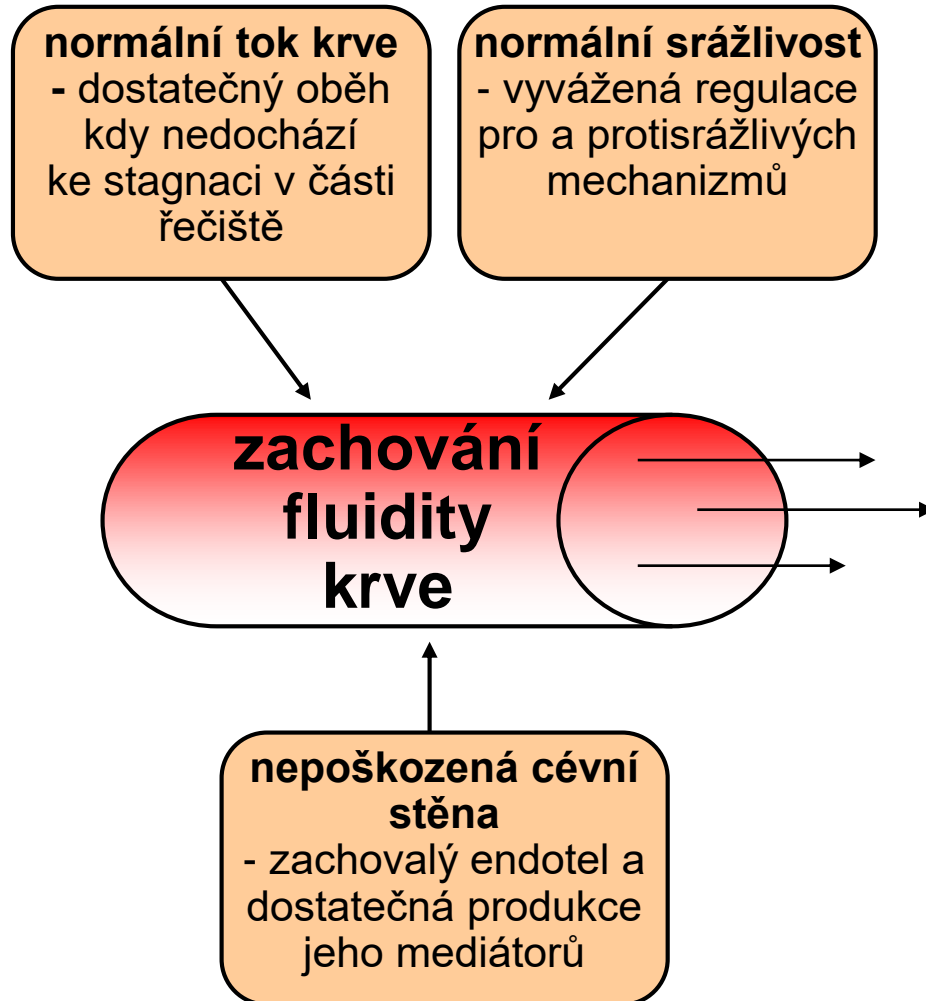


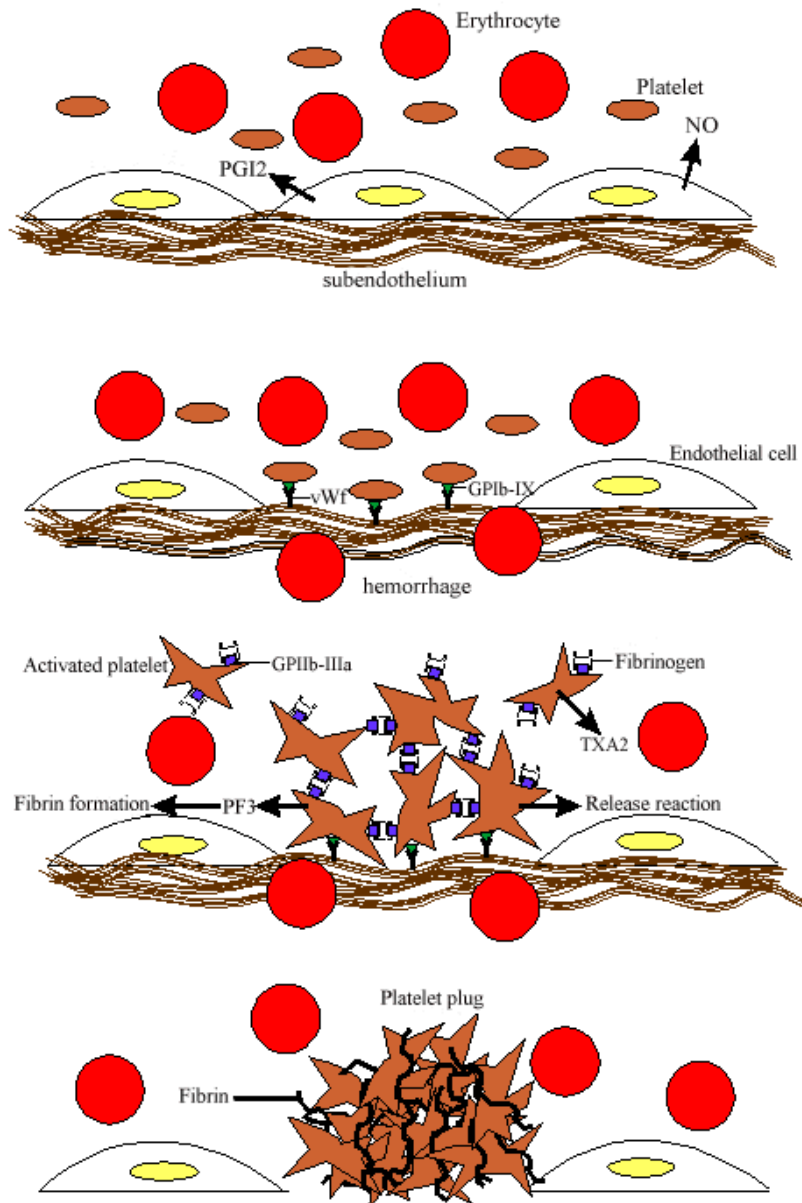
# PORUCHY HEMOSTÁZY

# Faktory zajišťující fluiditu krve



- změna nebo porucha v kterémkoliv z těchto faktorů (nebo kombinovaná porucha) má za následek
  - fyziologické srážení krve (= hemostáza)
    - primární
    - sekundární
  - patologické srážení krve (= trombóza)
    - zvýšení rizika
    - spontánní

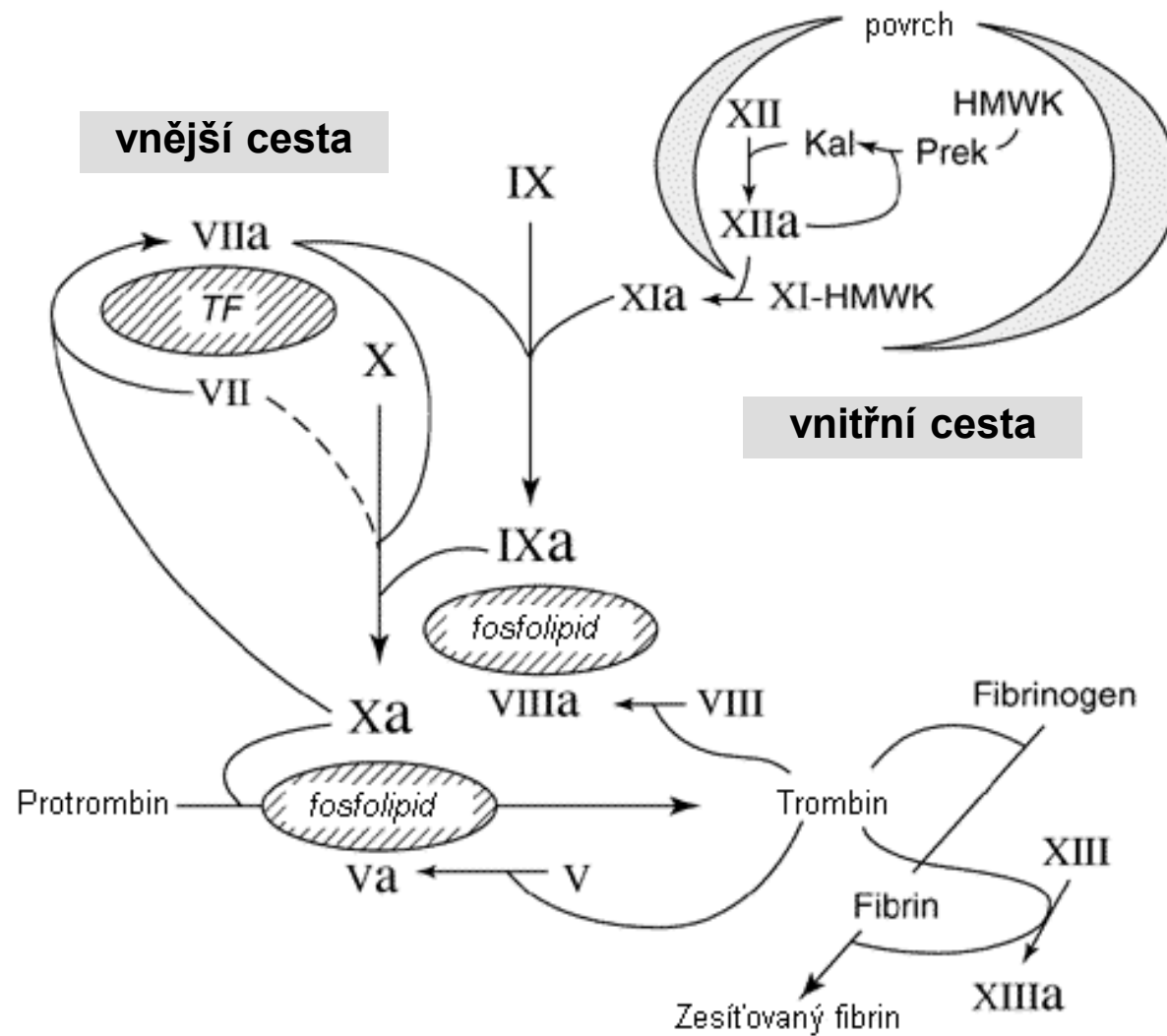
# Primární hemostáza



- endotel normálně brání hemostáze sekrecí inhibitorů agregace destiček a koagulace
  - oxid dusnatý
  - prostacyklin
  - trombomodulin
  - heparan-sulfát
  - tPA
- při poškození endotelu **adherují** trombocyty k vWf exprimovanému na odkrytém subendotelu prostřednictvím jejich receptorů (GPIb-IX)
- dochází k **aktivaci** destiček a uvolnění jejich mediátorů z granul
  - tromboxan, PAF, ADP, serotonin → aktivace dalších trombocytů (**agregace**), vazokonstrikce
  - exprese integrinů (GPIIb/IIIa) → vazba fibrinu a tvorba def. zátky
- trombocyty se podílí i na aktivaci sekundární hemostázy



# Sekundární hemostáza



## 2 typy aktivace

### - vnitřní cesta

- nastává po kontaktu HMWK, faktorů XII a XI s negativně nabitým povrchem, např.
  - ☛ obnažený kolagen v sub-endoteliální vrstvě cév
  - ☛ lipoproteiny (chylomikrony, VLDL)
  - ☛ stěna bakterií

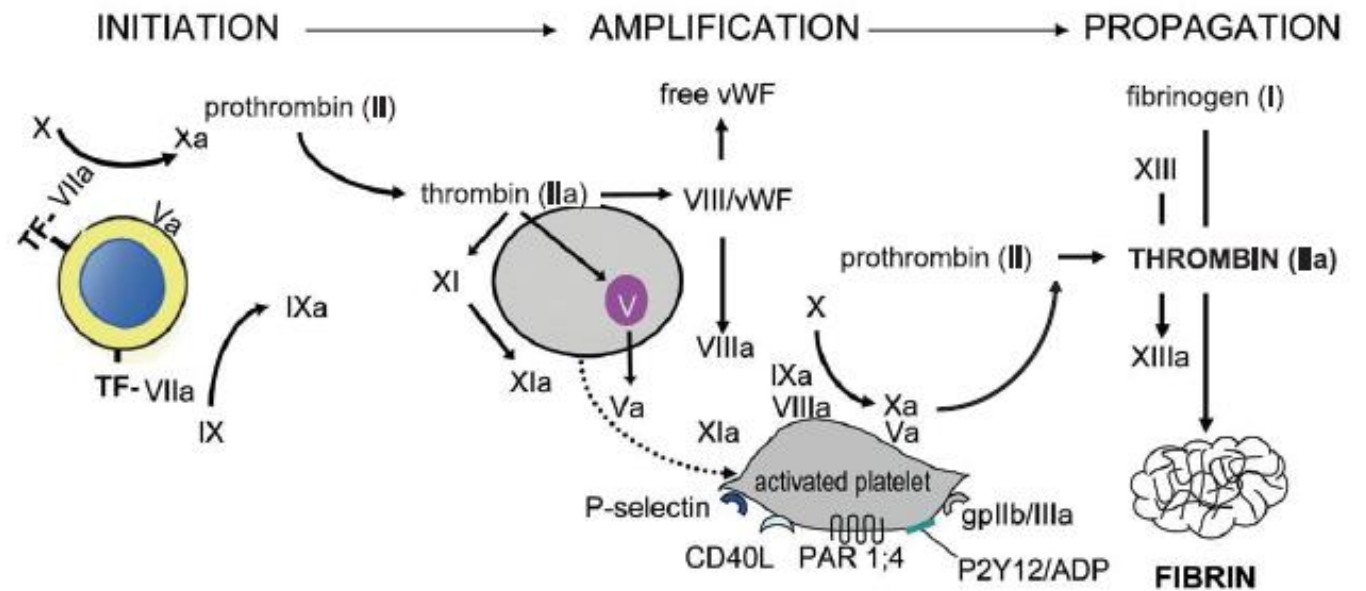
### - vnější cesta

- tkáňová faktor (TF, fIII) uvolněný z poškozených tkání funguje jako kofaktor f VII a V

# Buněčný model

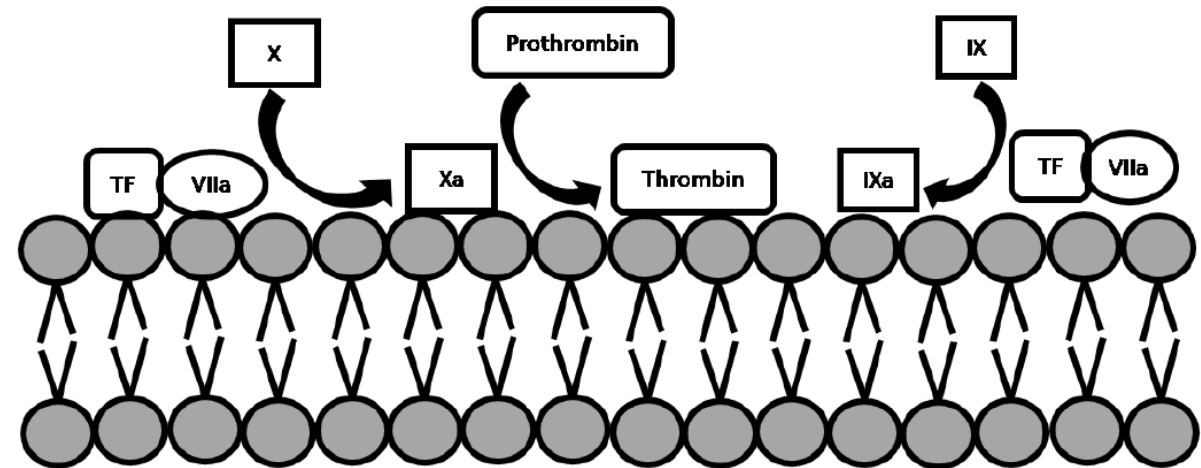
- Ústřední bod
  - Vznik trombinu z protrombinu
- Předchází však další reakce
- Tři fáze
  - Prolínají se
  - Překrývají se

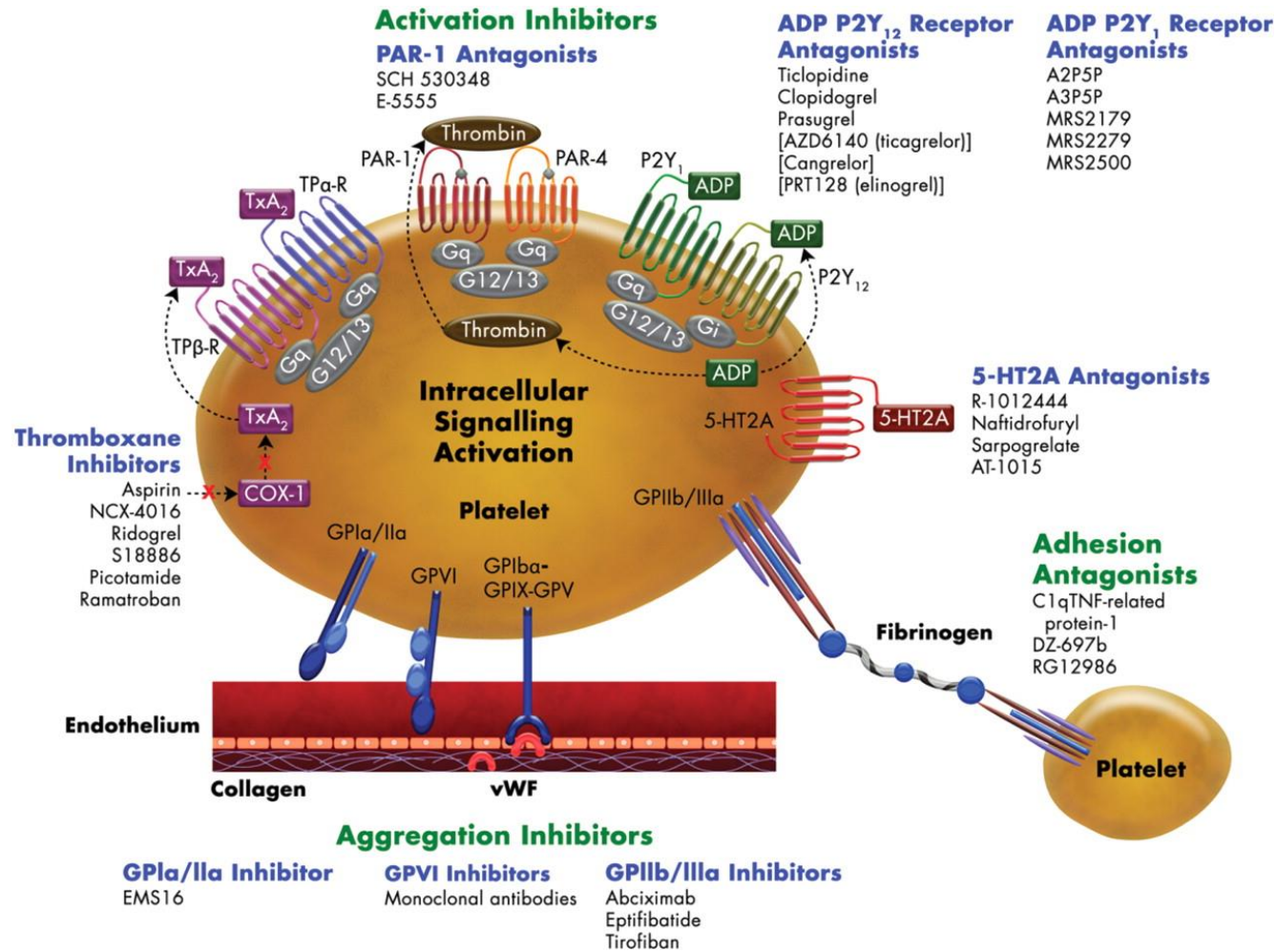
- Fáze iniciace
- Fáze amplifikace
- Fáze propagace



# Fáze iniciace

- TF – exprimován pouze po poškození
  - Subendoteliálně
    - Buňky hladké svaloviny, fibroblasty, makrofágy, endoteliální bb
  - V cirkulaci
    - Destičky – malé množství
- Na povrchu buněk nesoucích TF
  - Kontakt s faktorem VII, aktivace komplexu TF/VIIa
  - Aktivace faktoru X a IX
  - Konverze protrombinu na trombin
- V této fázi je vyrobeno jen malé množství trombinu
  - Inhibiční faktory
    - TFPI – inhibiční komplex TFPI/Xa
    - Antitrombin III







# Amplifikační fáze

- Probíhá na povrchu destiček
  - Destičky adherují na vaskulární a extravaskulární struktury

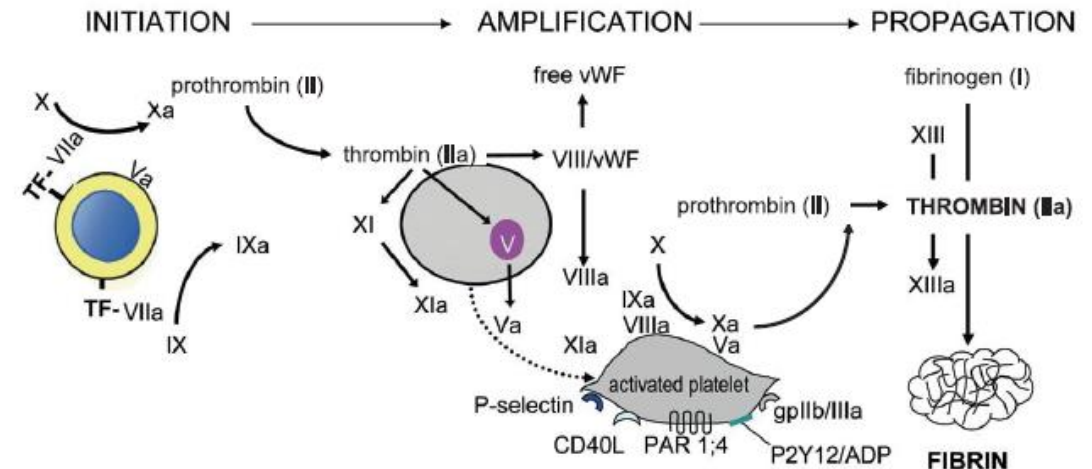
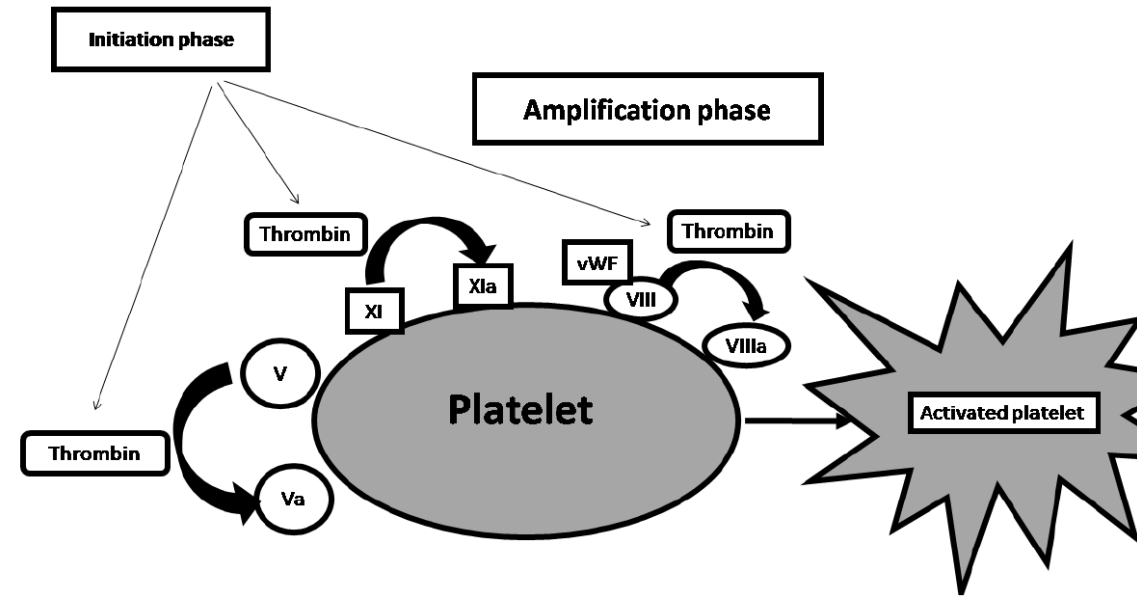
- Von Willebrandův faktor

## 1) TF aktivuje destičky

- Aktivace zahrnuje
  - Nepravidelný tvar, pseudopodia (zvětšení povrchu)
  - Exprese receptorů a vazných míst
  - Vyplavení serotoninu, Ca, ADP, faktoru V, fibrinogen, PDGF, vWF

## 2) Aktivace faktoru V, VIII a XI

- Faktor V je na povrchu destiček aktivován trombinem z iniciační fáze
- Trombin aktivuje faktor VIII na destičkách
  - vWF se odděluje z komplexu a umožňuje další adhezi
  - Faktor VIII zůstává na povrchu destiček
- Trombin aktivuje i faktor XI



# Amplifikační fáze II

## 3) Tenázový komplex

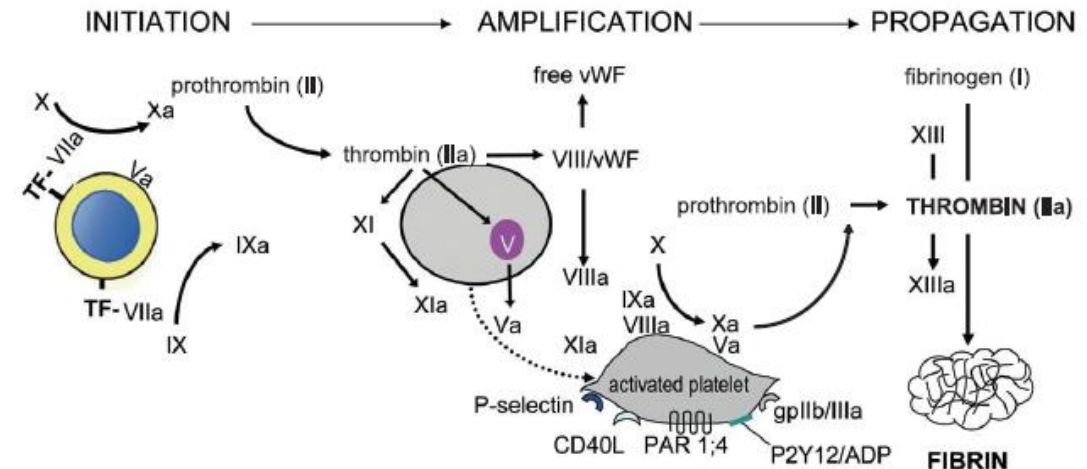
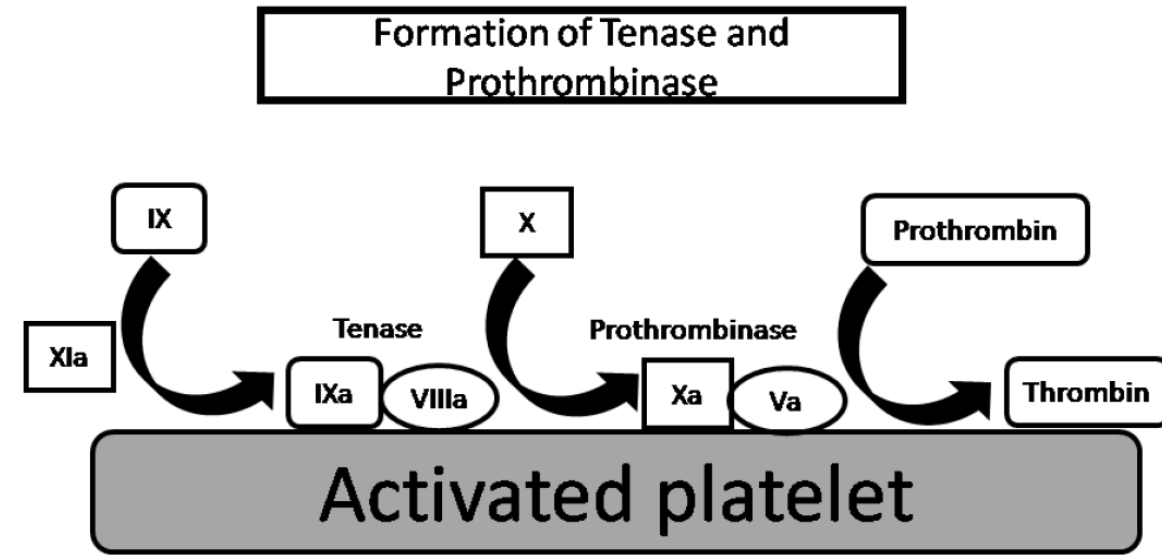
- Aktivovaný faktor IXa se váže na VIIIa – tenázový komplex (VIIIa/IXa)
  - Konvertuje faktor X na aktivní Xa

## 4) Protrombinázový komplex

- Aktivovaný faktor Xa tvoří komplex s Va

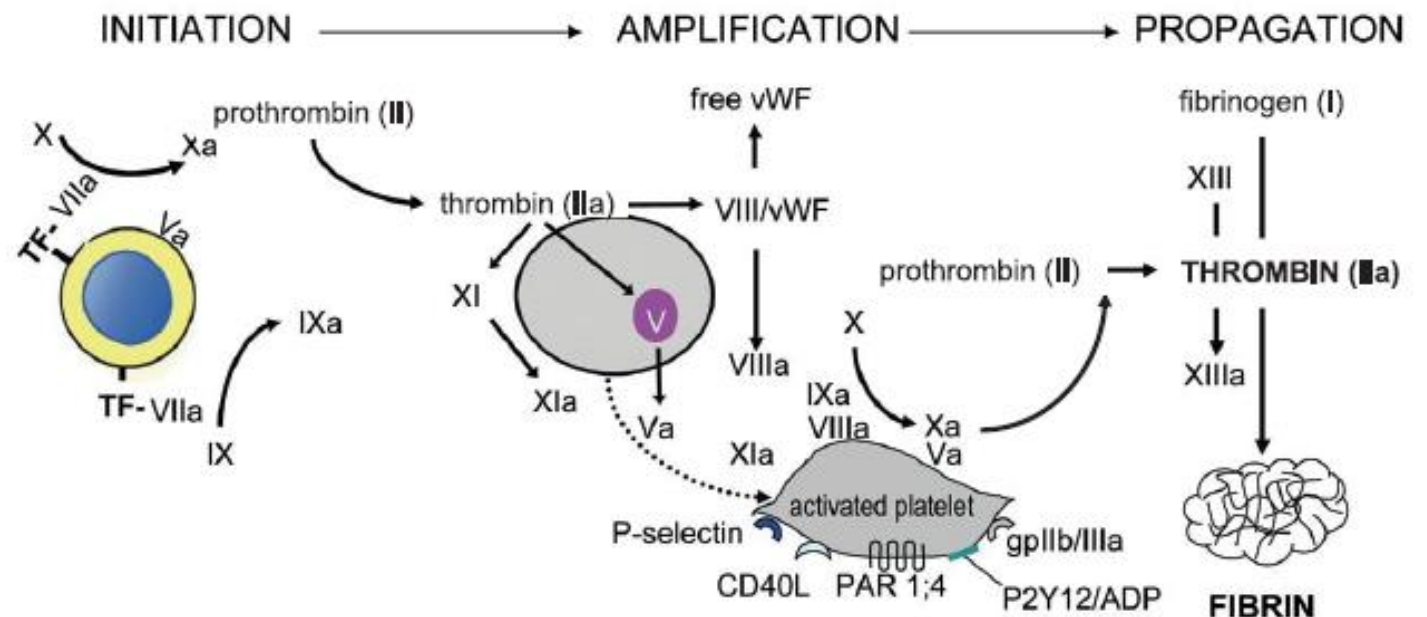
## 5) Tvorba trombinu

- Protrombináza konvertuje protrombin na velké množství trombinu
  - 300 000 účinnější než faktor Xa

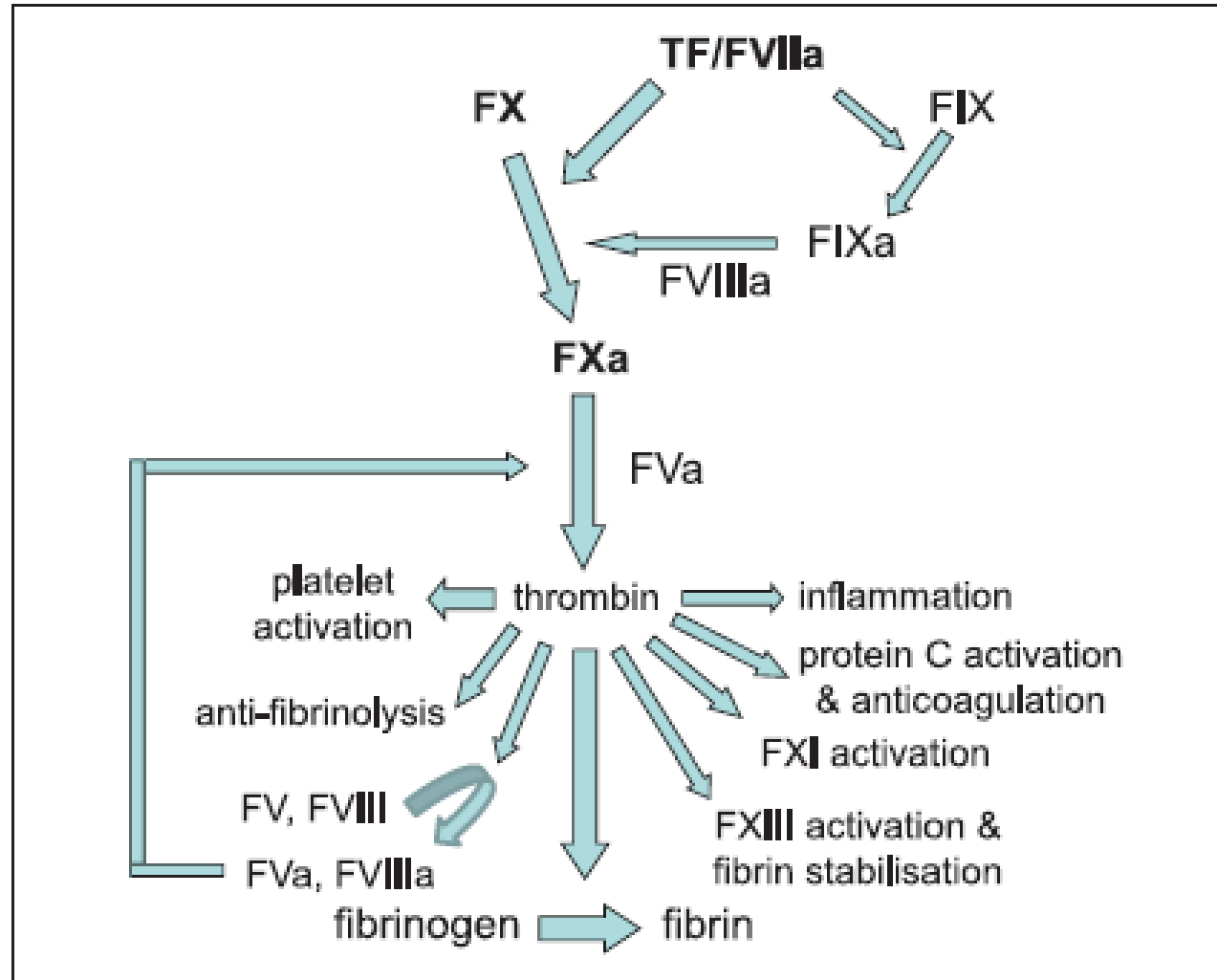


# Propagační fáze

- Další produkce trombinu
- Trombin konvertuje fibrinogen na fibrin
- Tvorba stabilní fibrinové sítě
  - Účast faktoru XIIIa

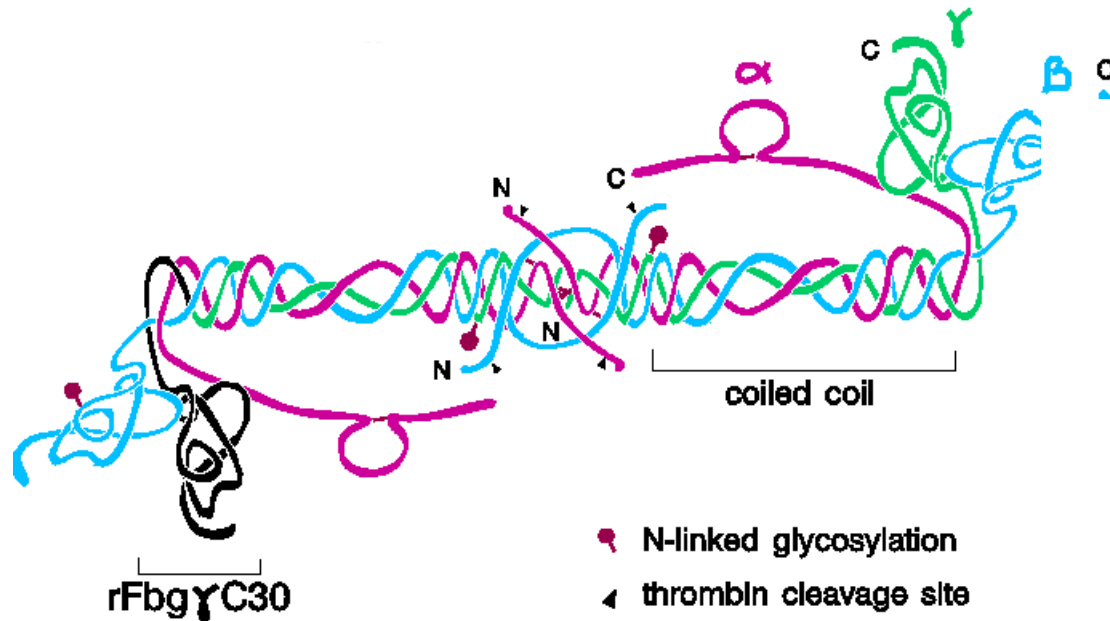


# Funkce trombinu

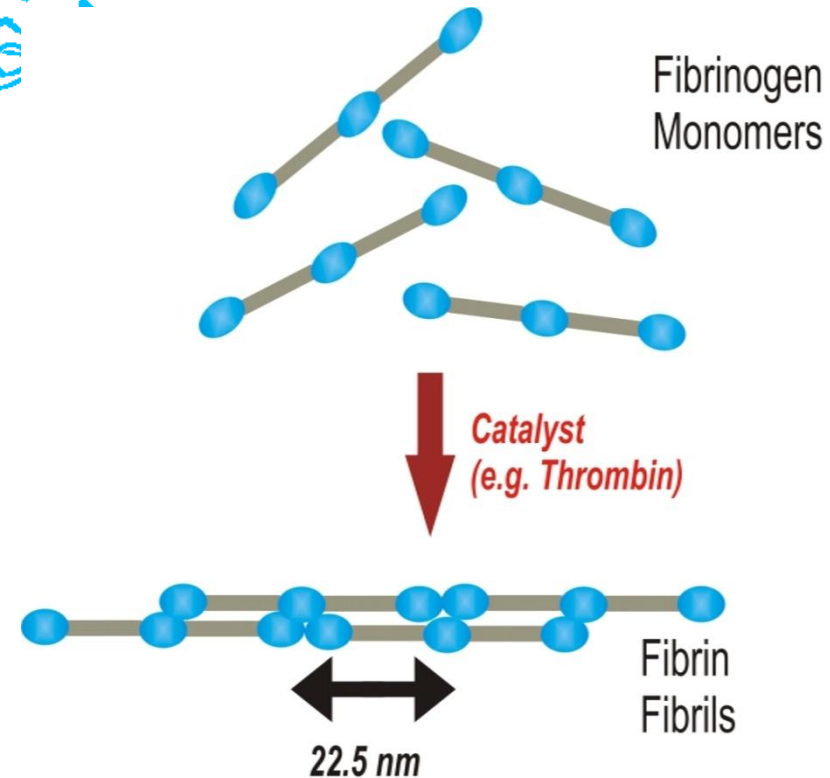


# Fibrinogen - fibrin

- 3 páry polypeptidů ( $[A-\alpha][B-\beta][\gamma]$ )<sub>2</sub> – 340kDa

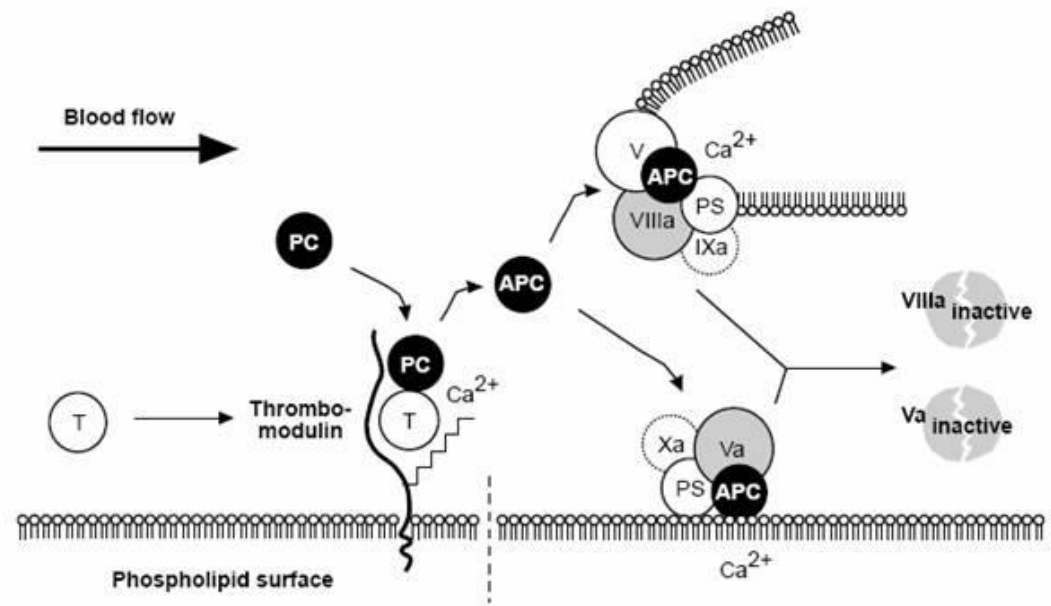
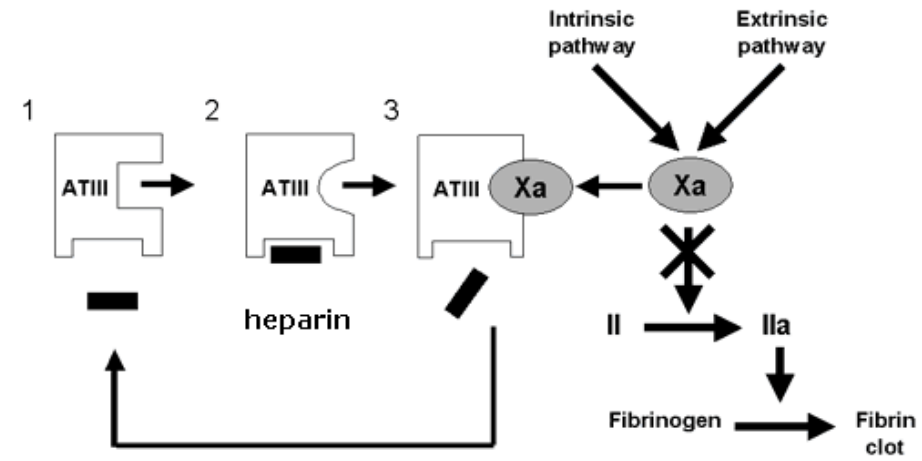


- trombin (serinová proteáza) odštěpuje fibrinopeptidy A a B a generuje monomery fibrinu ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ )<sub>2</sub>
- monomery spontánně agregují a vytváří fibrinovou síť
- trombin rovněž aktivuje fXIII (transglutamináza), který tvoří příčné vazby mezi polymery fibrinu



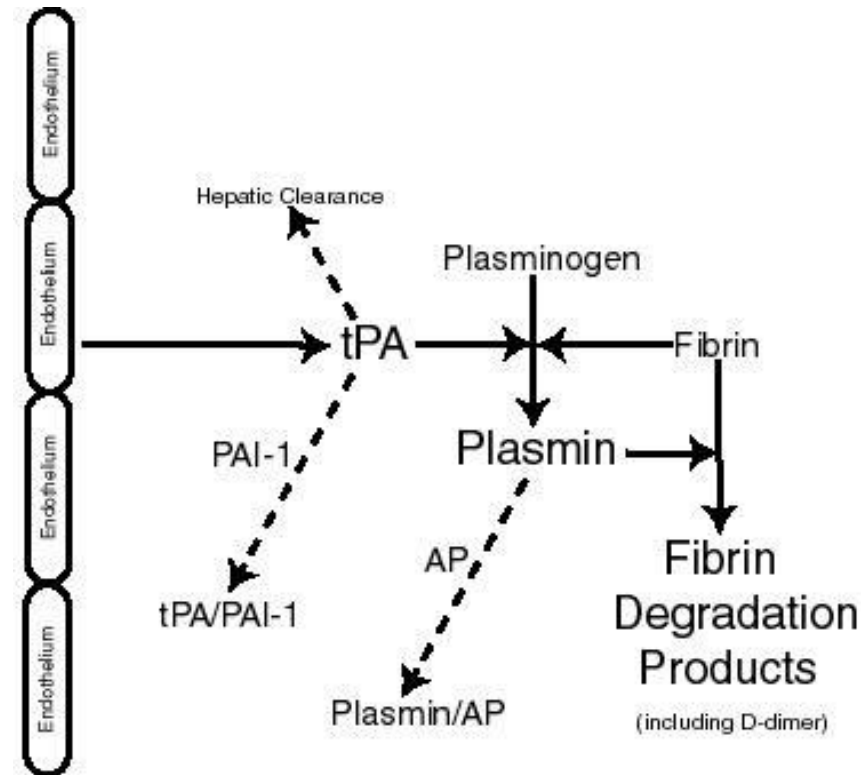
# Regulační mechanismy srážení krve

- rychlost toku krve
- koncentrace inhibičních faktorů
  - (1) kontrola na úrovni trombinu
    - antitrombin III (a heparan-sulfát)
      - ☛ inhibuje rovněž fVII, X, XI a XII
    - a2-makroglobulin
    - heparin kofaktor II
    - a1-antitrypsin
  - (2) kontrola na úrovni faktoru Xa
    - protein C + trombomodulin
    - protein S
- aktivita fibrinolýzy

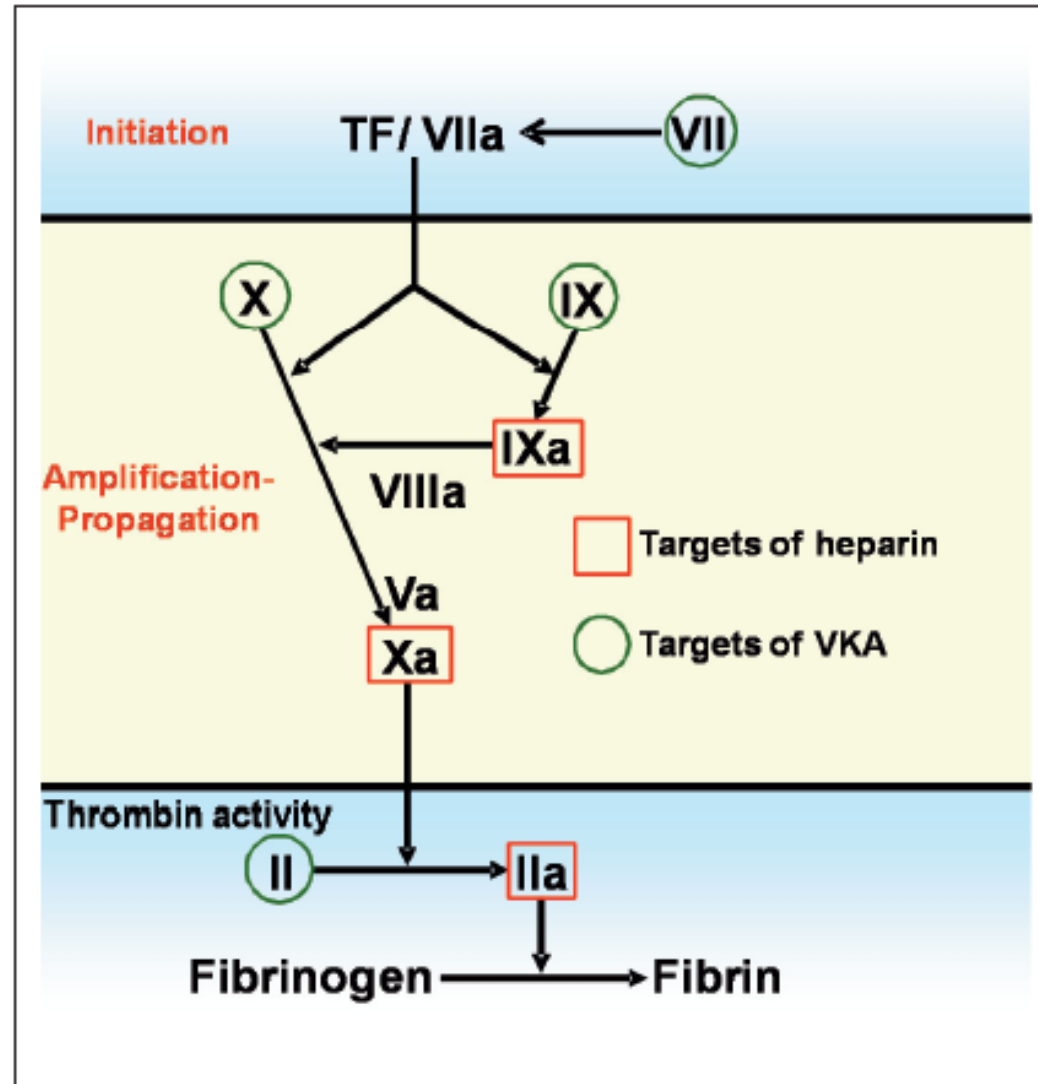


# Fibrinolytický systém

- plazmin (serinová proteáza) cirkuluje jako neaktivní proenzym (plazminogen)
  - volný plazmin rychle inhibován  $\alpha_2$ -antiplazminem
- aktivace plazminogenu pomocí tPA (endotel. bb.) a ukokinázy (epitel. bb.) na plazmin
- degradace fibrinu na degradační produkty
- aktivita tPA inhibována PAI-1

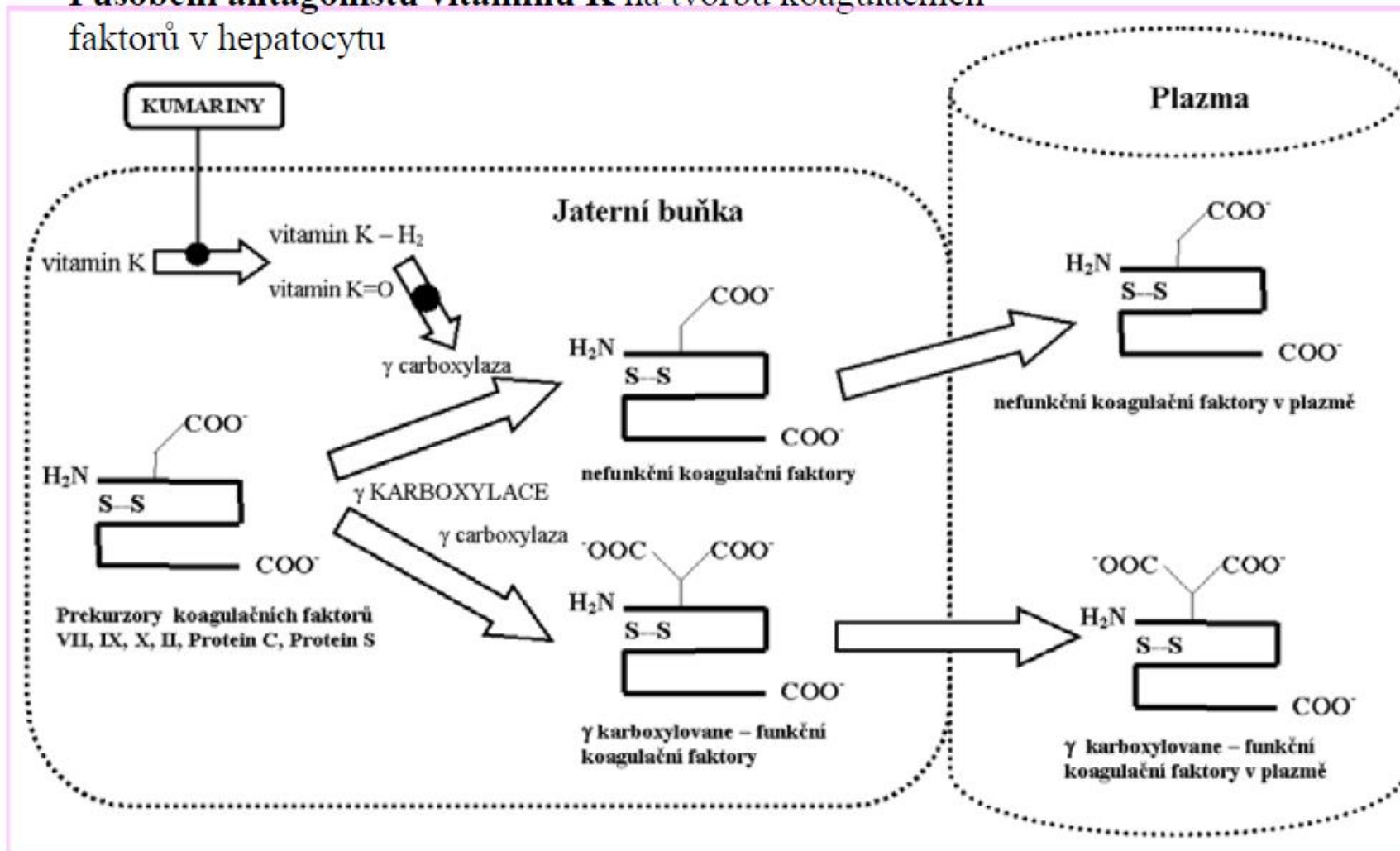


# Heparin vs. Warfarin

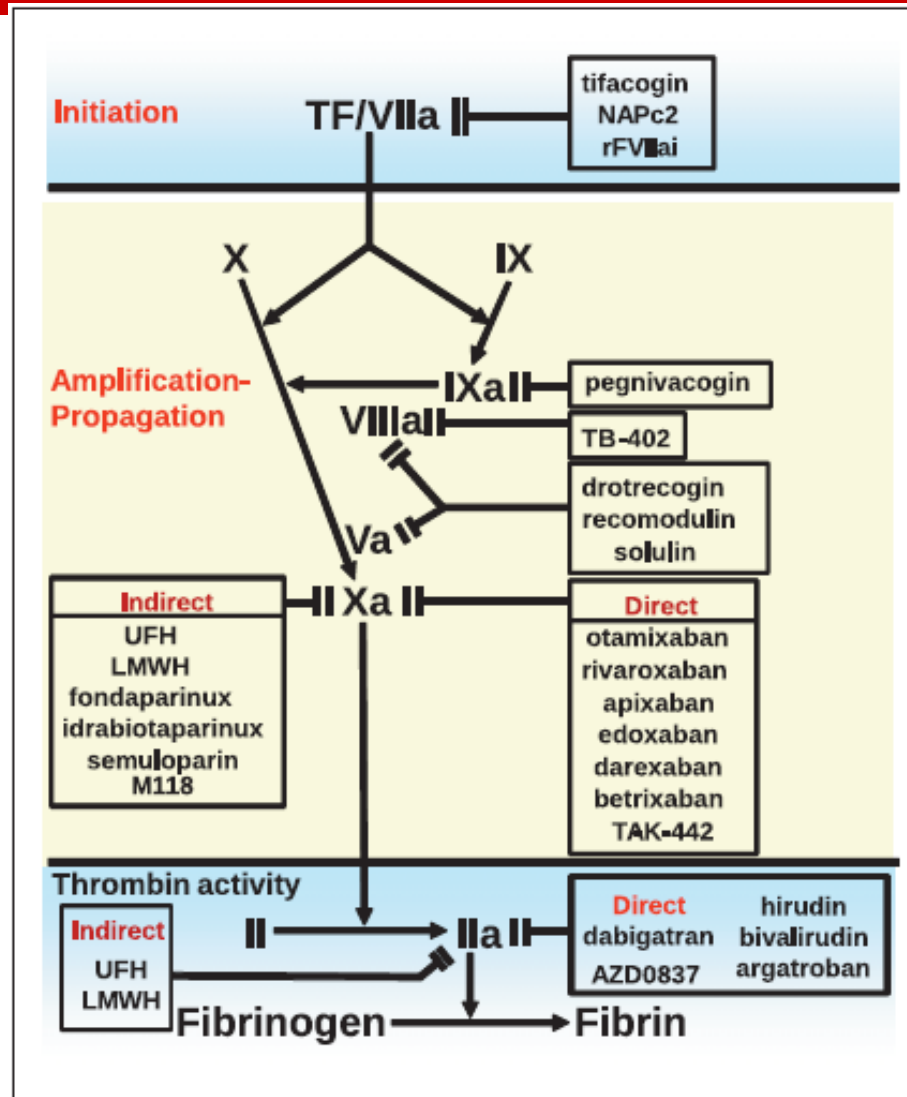




## Působení antagonistů vitamínu K na tvorbu koagulačních faktorů v hepatocytu



# Budoucnost



# Poruchy krevního srážení

- (A) hypokoagulační stavy (krvácivé diatézy)
  - defekt „primární hemostázy“
    - poruchy cévní stěny (senilní purpura)
    - trombocytopenie a trombocytopatie
    - von Willebrandova choroba
  - koagulopatie
    - hemofilie A a B
    - chronické jaterní onemocnění
- (B) hyperkoagulační stavy (trombofilie)
  - hereditární
    - activated protein C resistance (APCR)
  - získané
- (C) kombinované
  - syndrom diseminované intravaskulární koagulace (DIC)

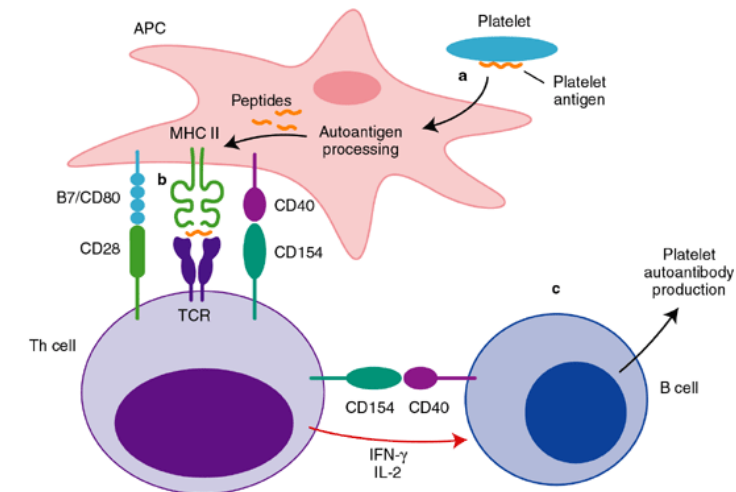
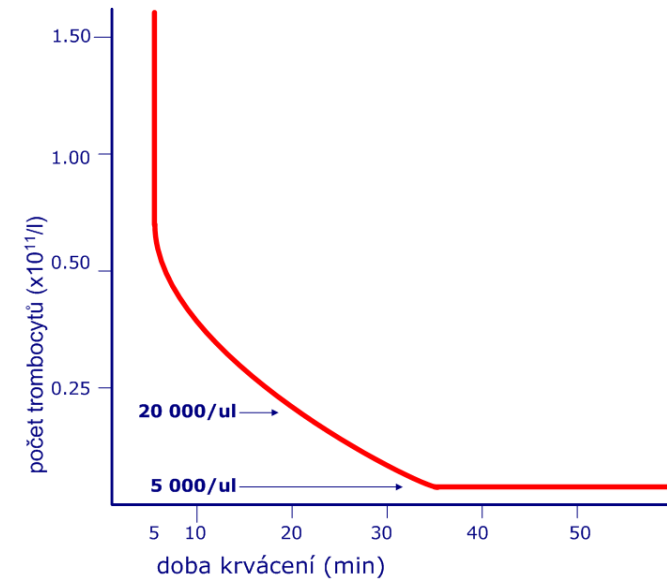
# Defekty „primární hemostázy“

- projevy: petechie, purpura, epistaxe, krvácení z dásní či do GIT, hematurie, menoragie
- (1) poruchy cévní stěny (vaskulopatie)
  - vrozené
    - telangiectasia hereditaria (m. Rendu-Osler)
      - ☛ AD, oslabení úseků stěny cév → telangiektazie (kůže, sliznice, plíce, urogenitální trakt)
    - Ehlers-Danlos a Marfanův syndrom
      - ☛ defekt struktury pojiva (kolagen)
  - získané
    - senilní purpura
    - bakteriální toxiny (spála, spalničky)
    - karence vit. C (scorbut)
    - imunokomplexy (Henoch-Schönleinova purpura)
- (2) trombocytopenie
- (3) trombocytopatie
- (4) von Willebrandova choroba



# Trombocytopenie a trombocytopatie

- počet trombocytů 150 – 400 000/ $\mu\text{l}$  ( $1.5-4 \times 10^{11}/\text{l}$ )
- v cirkulaci přežívají cca 8-10 dní
- (A) trombocytopenie = snížení počtu
  - <50 000/ $\mu\text{l}$  - zvýšené riziko krvácení
  - <20 000/ $\mu\text{l}$  - významné riziko
  - <5 000/ $\mu\text{l}$  - extrémně vysoké riziko
  - primární nebo sekundární
  - etiologie
    - snížená produkce
      - ☛ aplastická anemie
      - ☛ myelodysplastický syndrom
      - ☛ myelofibróza
    - destrukce
      - ☛ autoimunitní - idiopatická trombocytopenická purpura (ITP)
      - ☛ poléková
      - ☛ hypersplenismus
    - zvýšená spotřeba
      - ☛ DIC
      - ☛ trombotická trombocytopenická purpura (TTP)
- (B) trombocytopatie = porucha funkce
  - porucha adheze a agregace
    - Bernard-Soulierův syndrom (porucha receptoru GPIb-IX)
    - Glanzmannova trombastenie (porucha receptoru GPIIb-IIIa)
  - porucha degranulace
    - Heřmanského-Pudlákův syndrom
    - Chédiak-Higashiho syndrom

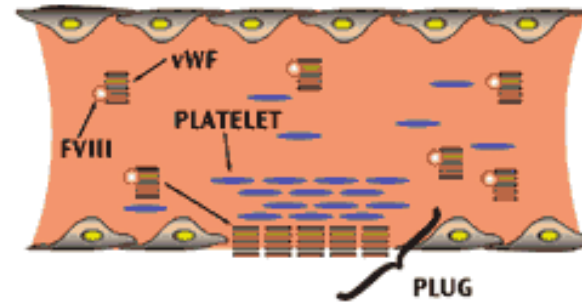


Model of platelet autoantibody production in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)

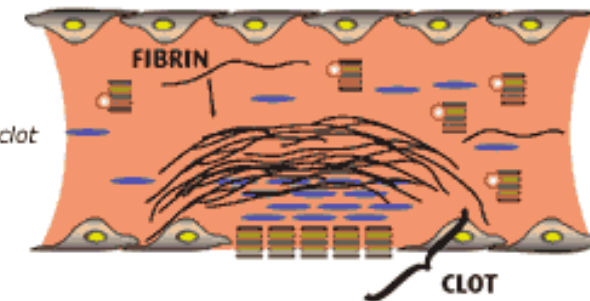
# von Willebrandova nemoc

- nejčastější vrozená porucha koagulace
- skupina stavů vedoucích k snížení hladiny vWf v plazmě
  - porucha adheze trombocytů
  - vWf je rovněž plazm. nosič fVIII (bez něho je nestabilní a rychle degradován) → tedy i porucha koagulace
- několik typů vW nemoci
  - typ 1 (~75%) – snížení koncentrace vWf
  - typ 2 (~20%) – normální koncentrace nefunkčního vWf
    - porucha vazby na destičky (typ 2A)
    - porucha vazby na kolagen subendoteliální vrstvy (typ 2B)
    - porucha transportu fVIII (typ 2N)
  - typ 3 – absolutní deficit vWf (homozygoti)

Figure 1. Normal Broken Blood Vessel

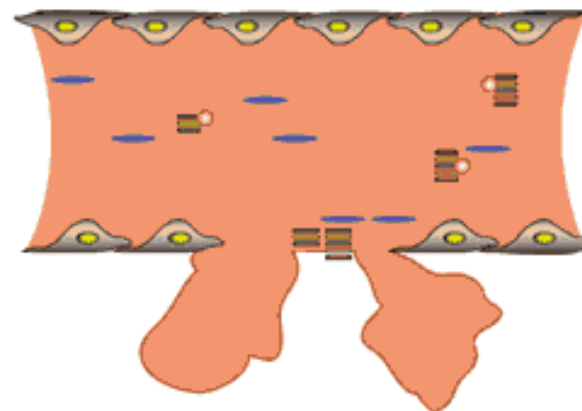


First, vWF proteins from the blood line up along the broken vessel wall and attract "sticky" platelets to form a plug.



Then the platelets attract strands of fibrin to strengthen the plug and form a clot. The clot helps stop the bleeding.

Figure 2. Broken Blood Vessel in vWD



When a person has vWD, there isn't enough vWF or the vWF is damaged. The clot may take longer to form or not form properly, and bleeding may take longer to stop.

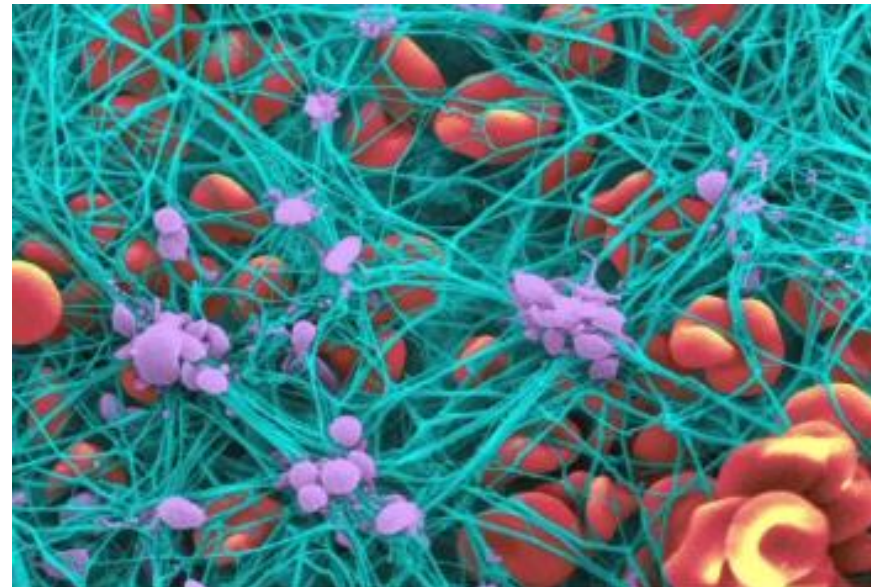
# Defekty sekundární hemostázy

- typické krvácení do tkání (hematomy), např. klouby, svaly, mozek, retroperitoneum, nejsou petechie a purpury
- (A) vrozené poruchy
  - hemofilie A (Xq-chromozom vázaná) – defekt fVIII
    - fVIII je kofaktor při aktivaci fX na fXa v reakci katalyzované fIXa
    - snížení koncentrace až na 25% normálu nepůsobí koagulační poruchu, snížení na 25-1% mírná forma, <1% těžká forma
    - >150 bodových mutací v fVIII genu – velká fenotypová variabilita!!!
    - prevalence v mužské populaci 1:5,000 až 1:10,000
  - hemofilie B (Xq-chromozom vázaná) – defekt fIX
    - prevalence 10x menší než hemofilie A
    - >300 bodových mutací v fIX genu (85% bodové, 3% krátké delece a 12% rozsáhlé delece)
  - defekty ostatních faktorů
    - vzácné, většinou autozomálně recesivní, klinicky manifestní poruchy jen při těžkém deficitu
      - afibrinogenemie (defekt fI)
      - hemofilie C (defekt fXI) – Aškenazy Židé
      - ostatní
- (B) získané poruchy
  - jaterní insuficience/selhání
  - nedostatek vitamínu K (porucha resorpce tuků ve střevě)
  - DIC



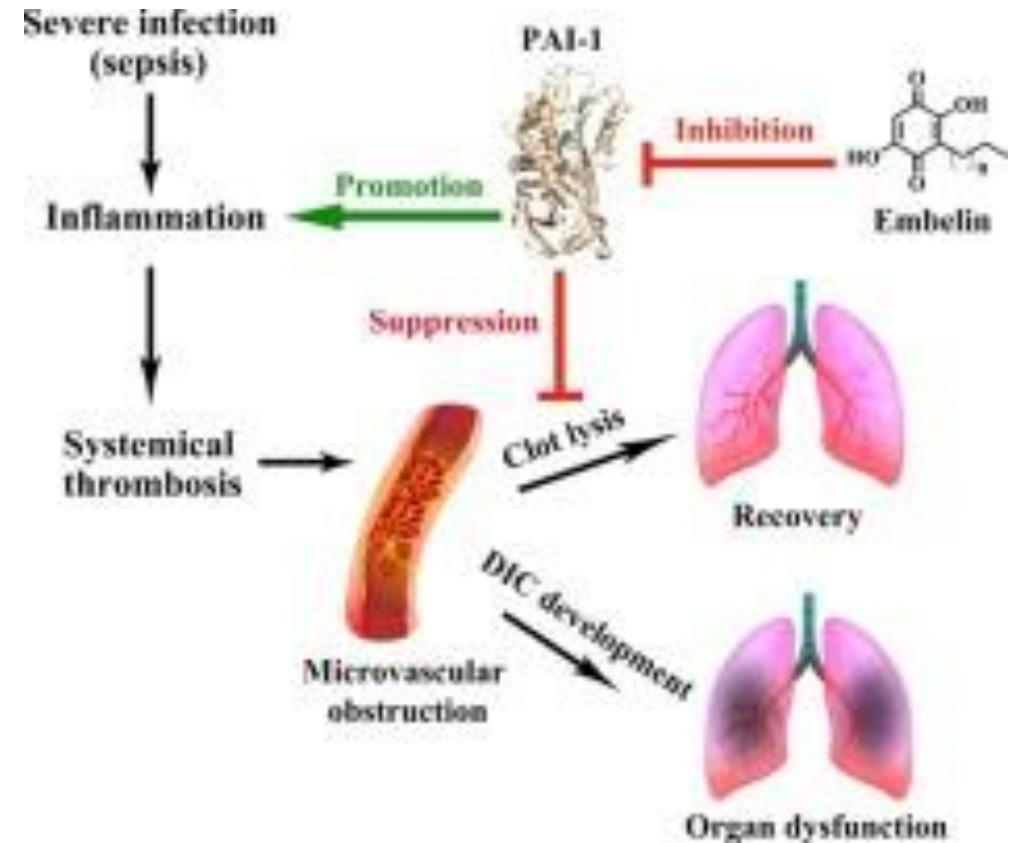
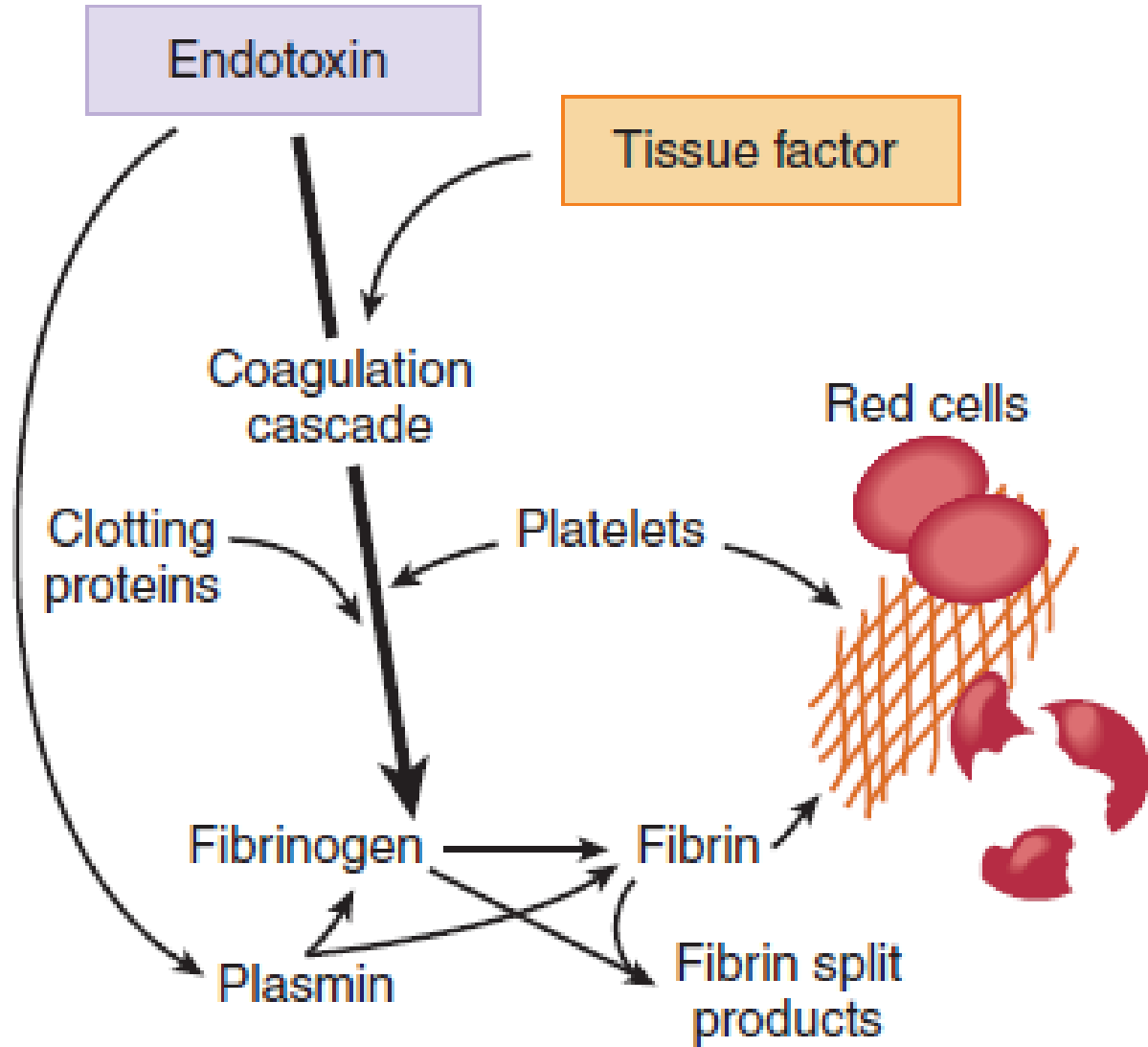
# DIC (konzumpční koagulopatie)

- zpočátku nadměrná koagulace (trombotický stav), posléze vyčerpání koagul. faktorů (krváčivý stav)
- koagulace při DIC je místně neohraničená a není primárně reakcí na poškození řečiště
- patogeneze
  - v cirkulaci není normálně přítomen TF!!!
    - endotel ani kr. bb. jej na svém povrchu neprodukují
  - při některých patologických stavech se vyskytuje a aktivuje faktor VII (a následně vnější cestu kr. srážení)
    - patologické zdroje TF
      - buňky jiných tkání – např. bb. plodu při porodu, rozsáhlá poranění, rozsev nádorových bb. při operaci atd.
      - patologické kr. elementy exprimující TF – např. při myelo- a lymfoproliferačních nemocech
      - patologicky aktivované endotelie a monocyty, které začnou exprimovat TF v membráně – např. endotoxinem při sepsi
      - TF z cytoplazmy erytrocytů uvolněný při hemolýze
- důsledky
  - 1. fáze - tvorba mikrotrombů v mikrocirkulaci
    - ischemie až gangrény
  - 2. fáze - hypo- až afibrinogenemie,
    - krvácení do orgánů
  - patologicky vystupňovaná fibrinolýza



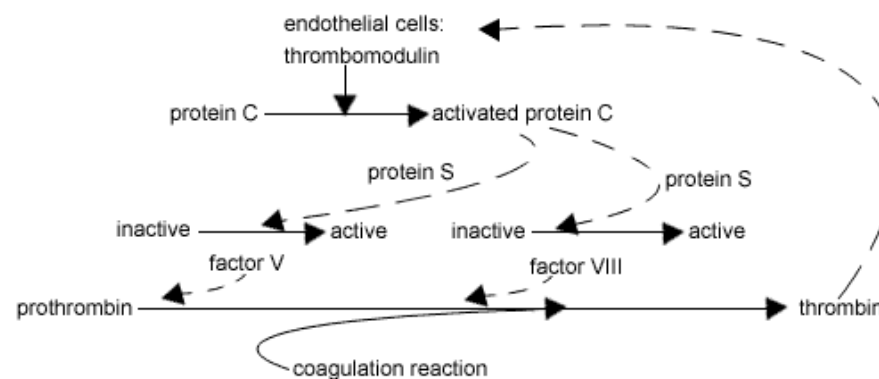


# DIC

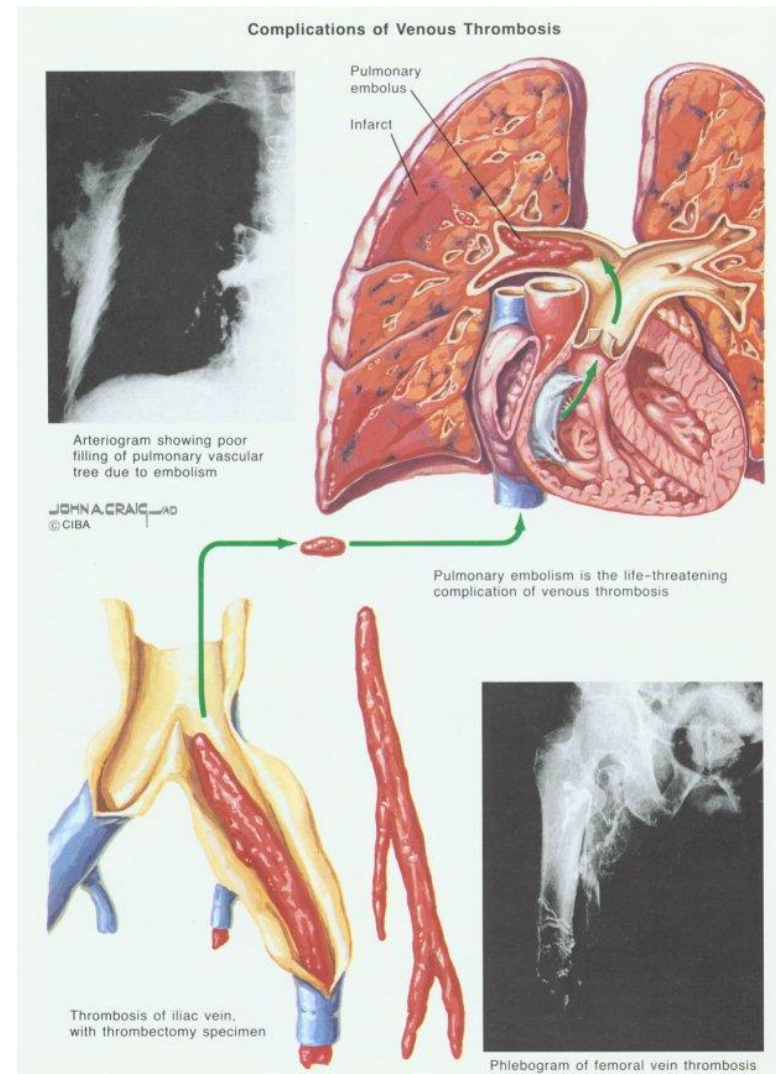
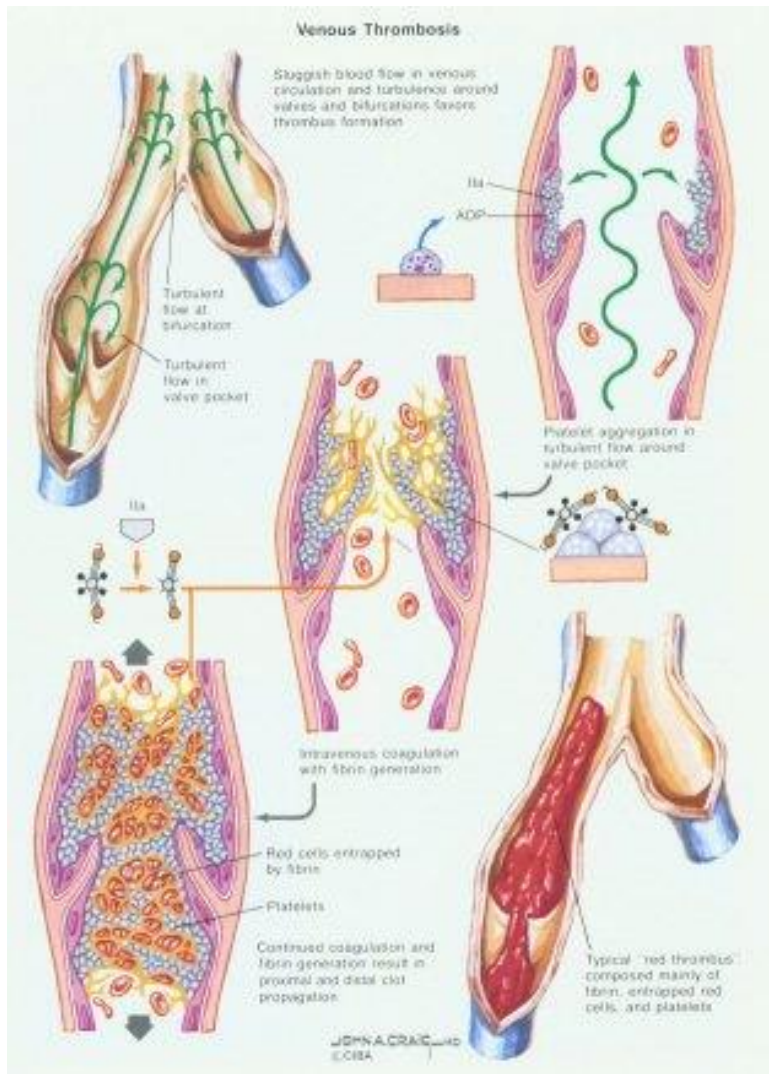


# Hyperkoagulační stavy

- vedou ke zvýšení rizika nebo až spontánním a často opakovaným venózním trombózám a tromboembóliím (do plic nejčastěji), popř. ke komplikacím těhotenství a infertilitě
- (A) vrozené trombofilie
  - (1) poruchy tvorby inhibitorů srážení
    - defekt AT III (AR)
    - defekt proteinů C a S (AD)
    - syndrom rezistence fV k aktivovanému proteinu C (APCR)
      - nejčastější vrozená porucha ("Leidenská" mutace fV)
    - mutace protrombinového genu (promotor → kvantitativní efekt)
    - hyperhomocysteinemie (mutace s genu pro MTHFR)
    - antifosfolipidový syndrom
      - protilátky anti-kardiolipinové, lupus antikoagulans aj.
      - patofyziologie nejasná
  - (2) porucha fibrinolýzy
    - ↑LP(a)
    - ↑PAI-1 (promotor → kvantitativní efekt)
- (B) získané trombofilie
  - (1) klin. situace a komplikace léčby
    - imobilizace
    - hyperestrogenní stavy (těhotenství, orální kontraceptiva, HRT)
  - (2) patologické stavy
    - ateroskleróza
    - obezita (↑ PAI-1)
    - hyperviskózní syndromy
      - polycytémia vera, trombocytémie, sek. polyglobulie, gamapatie)
    - nádorová onem.
    - srdeční selhání
    - hyperlipidémie, nefrot. syndrom
    - žilní insuficience



# Hluboká žilní trombóza a následná plicní embolie



# Princip testů

- Smícháním zkoumané plazmy, tkáňového tromboplastinu a vápenatých iontů se spustí vnější část koagulační kaskády.
- Kaskáda končí vytvořením fibrinové sraženiny.
- Výsledkem testu je čas od smíchání uvedených látek do vytvoření sraženiny.

# Výsledná hodnota APTT testu

- informace o funkčnosti **vnitřní části koagulační kaskády**.
- udává čas od spuštění koagulační kaskády vápenatými ionty do vytvoření fibrinové sraženiny.
- Normální hodnoty se pohybují mezi 25-39 s.
- Příčinou prodloužení APTT je například
  - nedostatek koagulačních faktorů vnitřní části kaskády (hlavně VIII a IX),
  - terapie heparinem,
  - výrazné předávkování warfarinem.
- U heparinizovaných pacientů je doporučená hodnota APTT 1,5 až 2,4 násobek normy.

# Quickův test (prothrombin time, PT)

- informuje o rychlosti přeměny protrombinu na trombin působením tkáňového tromboplastinu.
- Tkáňový tromboplastin je tvořen lipoproteinovou složkou (tzv. tkáňovým faktorem) a složkou fosfolipidovou (rovněž tvořenou v tkáních).
- Tímto testem se určuje aktivita tzv. protrombinového komplexu a funkčnost **vnější části** koagulační kaskády.
- Nejčastěji se používá při testování účinnosti antikoagulační léčby antagonisty vitamínu K (**warfarin**).

- CYP3A4 – 50% metabolizovaných léků
- CYP2D6 – 20%
- CYP2C9 + CYP2C19- 15 %
- CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 a CYP2A6 byly prokázány jako funkčně polymorfní
  
- Např. ovlivňuje metabolismus warfarinu, acenocoumarolu a dalších léků (phenytoin, tolbutamid, glipizide a další perorální antidiabetika typu sulfonylurey).

# Interakce s léky metabolizovanými a/nebo reagujícími s CYP2C9

17, 20, 21

Soutěž o substrát	Enzymový induktor	Enzymový inhibitor
ASA a většina <a href="#">NSAID</a>	rifampicin	fluvoxamin (ostatní SSRI slabí)
fenobarbital, fenytoin	fenobarbital, fenytoin	<a href="#">omeprazol</a>
S-warfarin	<a href="#">karbamazepin</a>	<a href="#">inhibitory HMG-CoA reductázy</a>
losartan		tolbutamid
tolbutamid		cimetidin (slabý)
sulfonamidy, dapson		<a href="#">azolová antimykotika</a> (slabá)
<a href="#">diazepam</a> , tenazepam		ritonavir
fluoxetin, moclobemid		<a href="#">desethylamiodaron</a>
zidovudin		

20. Topinková E et al: Postgrad Med 2002; 5:477-82

21. Naganuma M et al: J Cardiovasc Pharmacol Ther 2001; 6:636-7