

Poruchy primární hemostázy

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), aPTT, PT, fibrinogen

Globální testy prim. hemostázy:

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

Poruchy trombocytů

Odchylka počtu:

- trombocytopenie
- trombocytóza (trombocytémie)

Trombocytopatie:

- ve smyslu hypofunkce

Trombocytopenie - etiologie

- pseudotrombocytopenie v EDTA (15-20%)
- destičkový satelitismus
- získané (sekundární)
 - protilátkové
 - ostatní
 - zvýšený zánik v periférii
 - snížená produkce
- vrozené (primární)

Trombocytopenie hereditární - klasifikace

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

Velikost trombocytů

- **MPV < 7 fl**
 - Wiskott-Aldrich
 - X-vázaná trombocytopenie
- **MPV = 7-11 fl**
 - TAR, CTRUS
 - kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie
 - dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML
 - AD trombocytopenie s vazbou na chromosom 10
- **MPV > 11 fl**
 - nejvíce

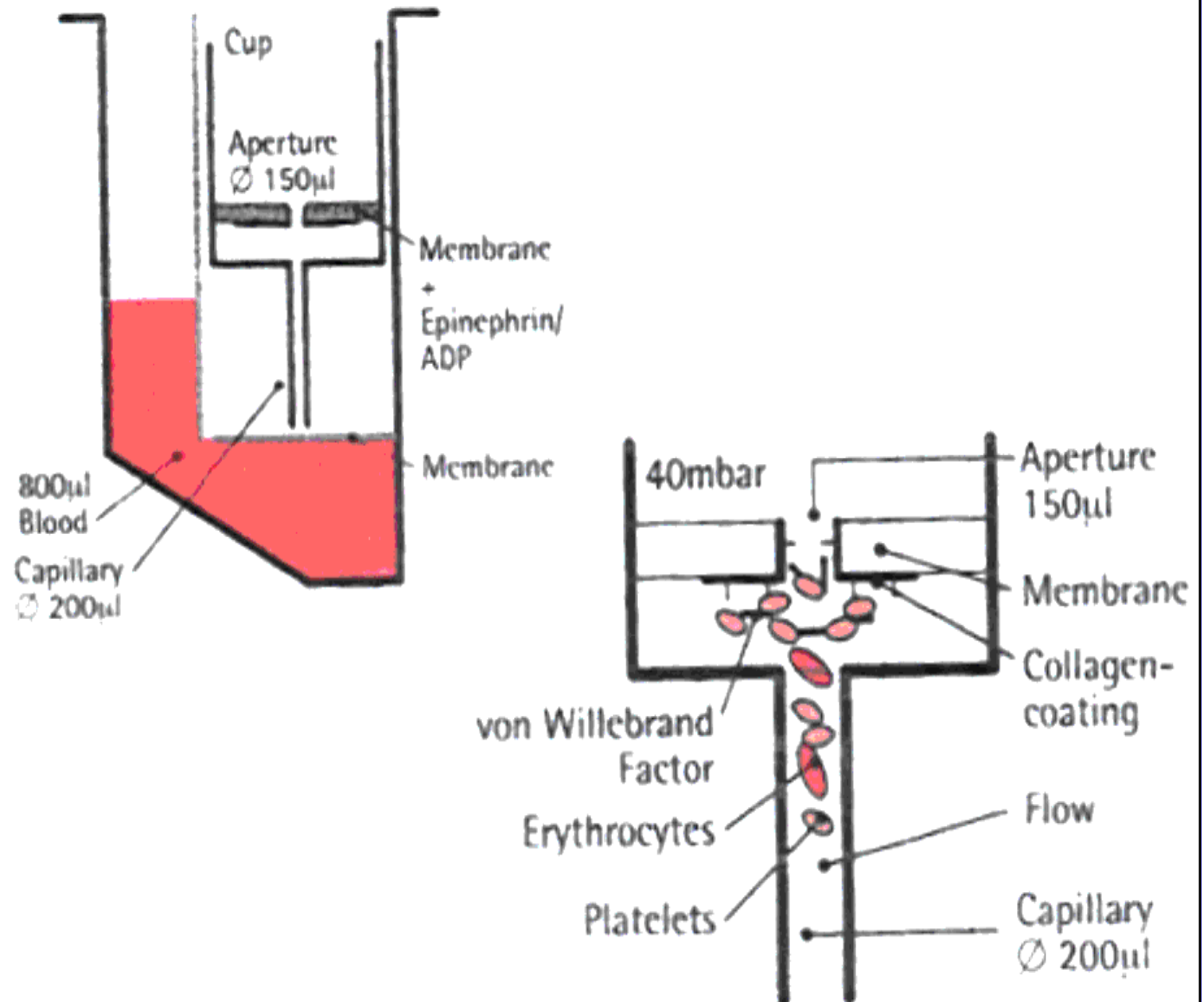
Typ dědičnosti

- většina **autosomálně dominantní**
- **autosomálně recesivní**
 - kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie
 - TAR
 - Bernard-Soulier sy
- **X-recesivní**
 - Wiskott-Aldrich sy
 - X-vázaná trombocytopenie
 - X-vázaná trombocytopenie s dyserythropoezou

Přidružené abnormality

- MYH 9 (Fehner sy, Epstein sy, APSM)
- kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie
TAR, CTRUS
- dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML
- X-vázaná trombocytopenie s dyserythropoezou
- Paris-Trousseau (Jacobsen) sy
- velokardiofacial sy

PFA – 100 (schéma)



PFA – 100 (closure time = CT)

- kolagen / epinefrin (94 – 193 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 vivo
 - in vitro – dle Salzmanna
- retrakce
- RiCo
- ověření počtu a morfologie trombocytů (MCV)
- 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
- IIa = 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 (dědičnost autosomálně dominantní)

- **Hemangiomy** (Kasabach-Merritt syndrom)
Telangiektázie (Rendu-Osler-Weber syndrom = HHT) (AD)
Ehler-Danlos syndrom (AD)
 - hyperelastičnost, hypermotilita, cévní fragilita
prominující bulby, malý nos a rty
- **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**

Hereditární makro - trombocytopenie I

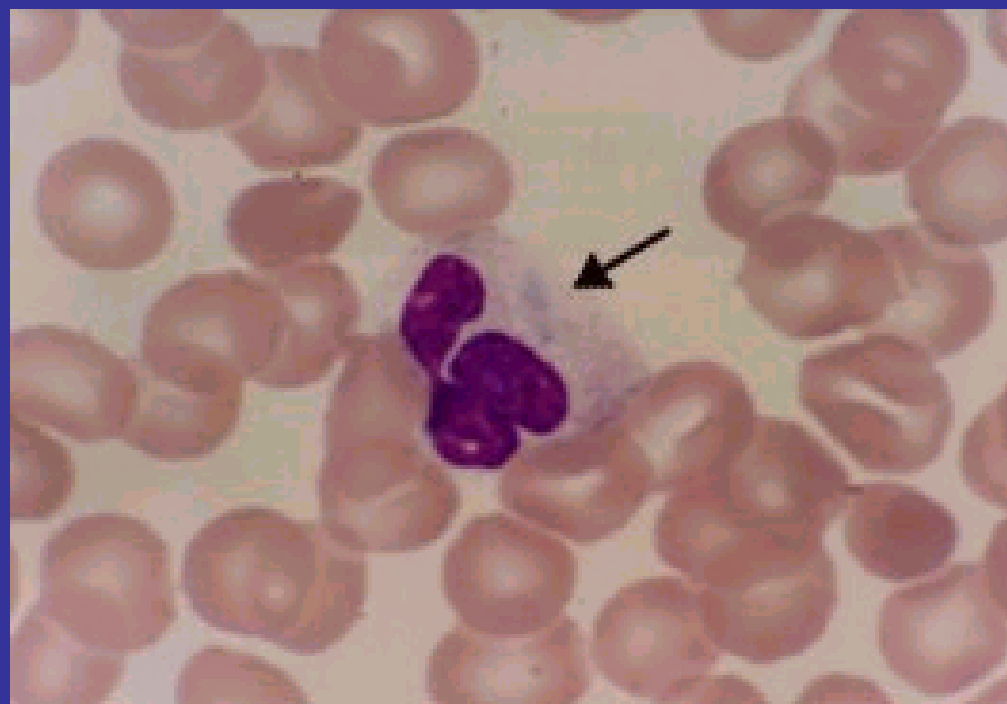
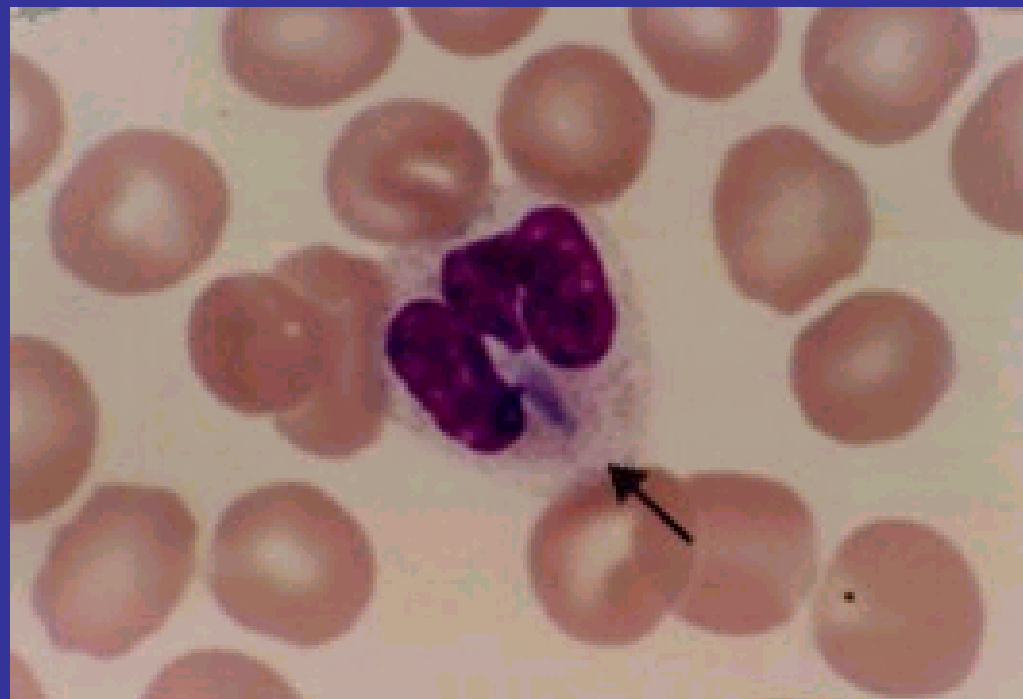
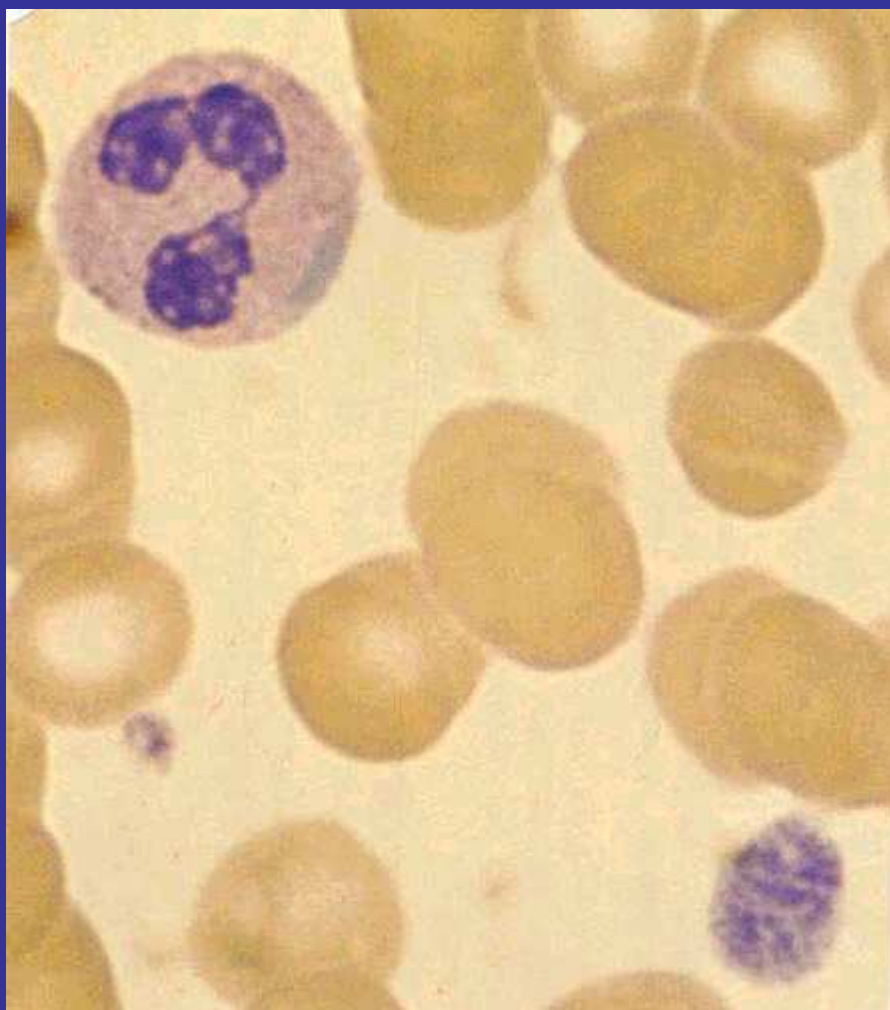
- Bernard-Soulier (AR, fu – P: ristocetin)
 - defekt GPIb/IX/V
- Montreal sy (AD, fu – P: trombin)
 - defekt proteinázy akt. Ca^{++} (calpain) - fu v cytoskeletu
 - samovolná agregace
- Gray platelet sy (AD, fu – P: ADP, kolagen, trombin)
 - α granula malá, prázdná, vakuolizace MGK, myelofibroza
- Hereditární makrotrombocytopenie (AD, fu – N)
- Hereditární makrotrombocytopenie (AR, fu–P:epinef.,ARA)
 - defekt GP Ia, Ic, IIa
 - defekt mitrální chlopně
- Destičkový typ von Willebrandovy choroby (AD, fu – P)
 - agregace po ristocetinu $< 0,5 \mu\text{g/ml}$
 - agregace po vWF bez ristocetinu (dif. dg. M.vW 2B)
 - defekt GP Ib

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 inclusions + makrotrombocyt



Hereditární makro - trombocytopenie III

- **Paris-Trousseau sy + Jacobsen sy** (AD, fu – N)
 - defekt protoonkogenů Fli-1, Ets-1(11q23) funkce v angiogenezi a hematopoeze
 - jen 10% trombocytů je větších
 - v 15% trombocytů velká červená α -granula
 - mikroMGK, zmnožení MGK
 - ment. retardace, vady srdce, obličej (Jacobsen)
- **Velokardiofaciální sy** (AD/R, fu – P: ristocetin)
 - delece (22q11) – defekt GPIIb β (CGS gen)
 - trombocyty $> 100 \times 10^9 / l$
 - vady srdce, rozštěp patra, porucha učení, hypoparatyreoza, insuficience thymu

Hereditární makro - trombocytopenie IV

- **makrotrombocytopenie s defektem GPIV**
(AD, fu – hyperagregace ADP, kol., ristocetin, epi)
 - defekt glykosylace GPIV
 - trombocytopenie 45×10^9 /l až norma
- **makrotrombocytopenie s defektem destičkových GP a mitrální insuficiencí**
(AR – Puerto Rico, fu–P: ADP, ARA, trombin)
 - defekt GP Ia, Ic, IIa
 - trombocytopenie $50-60 \times 10^9$ /l

Hereditární makro - trombocytopenie V

- **X-vázaná trombocytopenie s dyserythropoezou**
(fu – P: ristocetin)
 - mutace GATA-1 genu, porucha syntézy globinu
 - anemie různého stupně
 - trombocytopenie $10-40 \times 10^9 / l$
 - Th: SCT
- **Hyperexprese glykoforinu A** (AD, fu – N)
 - jedna rodina
 - lehká trombocytopenie $50-120 \times 10^9 / l$

Hereditární normo - trombocytopenie I amegakaryocytární

- **TAR** (AR, fu – P: kolagen, epinefrin)
 - vysoký TPO, normální jeho receptor c-mpl
- **kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie s radio-ulnární synostozou CTRUS** (AD, fu - ?)
 - mutace genu HOXA11 ⇒ defekt regulačního proteinu hematopoezy a vývoje kostí
- **kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie**
(AR, fu - ?)
 - těžká trombocytopenie
 - progrese do pancytopenie ve II. dekádě
 - mutace genu c-mpl pro receptor trombopoetinu
 - Th: SCT

Hereditární normo - trombocytopenie II

- Fanconiho anemie (AR, fu - ?)
 - cytopenie, pigmentace, hypoplasie – skeletu, očí, ledvin, mentální retardace
 - instabilita chromozomů (minim. 5 genů)
- **Alport sy** (normotrombocyty, AD, fu – P: ADP, kolagen)
 - mutace kolagenu IV
 - glomerulonefritis, hluchota
- **Quebec sy** (AD, fu – P: především po epinefrinu)
 - degradace obsahu α granulí proteázou - neurčena
 - granula zachována
 - i normální počet trombocytů

Hereditární normo - trombocytopenie III

- **dědičná trombocytopenie s predispozicí k AML**
(AD, fu- N/P: kolagen, epinefrin)
 - defekt genu CBFA2 (AML1)
 - TH: SCT (vyloučit u sourozeneckých dárců)
- **trombocytopenie s vazbou na chromosom 10**
(AD, fu - N) - trombocytopenie 30-110 x10⁹ /l
 - mikroMGK
 - susp. mutace v genu kinázy FLJ14813
- **famil. trombocytopenie** (AD, fu- N/P: kolagen, epinefrin)

Hereditární normo – trombocytopatie I

Glanzmannova trombastenie (AR):

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

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
 - okulokut. albinismus, pigment v makrofázích
 - plicní fibroza, střevní onem.
- Chediak-Higashi sy (+trombocytopenie) (AR)
 - CHS protein – hydrofobní, fu v membránách, lysozomy
 - okulokutánní albinismus, infekty, lymfoproliferace
 - Chediak-Higashi granula POX pozit

Hereditární mikro - trombocytopenie

- Wiskott-Aldrich (XR, fu – P: ADP, kolagen, trombin)
 - defekt WASP - přenos signálu IC
 - regulace cytoskeletu
 - lymfopenie až od 6 let
 - ↓ IgM ↑ IgA, IgE
 - MPV 3,8 – 5,0 fl (7,1 – 10,5) \varnothing 1,8 +/- 0,12 μ m (2,3 +/- 0,12)
 - 231 mutací
 - přežití 3,5 - 11 let
 - úmrtí: - 44% infekty - 26% malignity - 23% krvácení

Hereditární trombocytopatie

Defekt:

- membrány: Bernard-Soulier, Glanzmann, dest. typ vWCh,
- δ granulí: Wiskott-Aldrich, Heřmanský-Pudlák, Chediak-Higashi sy
- α granulí: Gray platelet sy, Quebec sy
- enzymů: COX, LPO, TXS
- signální defekty: mobilizace ARA, Ca, aktivace G proteinu, fosforylace

Porucha:

- adheze
- aktivace
- sekrece
- agregace
- prokoagulace

Hereditární

trombocytopenie

MPV
trombocyty
mikroskopicky

typ dědičnosti

agregace
trombocytů

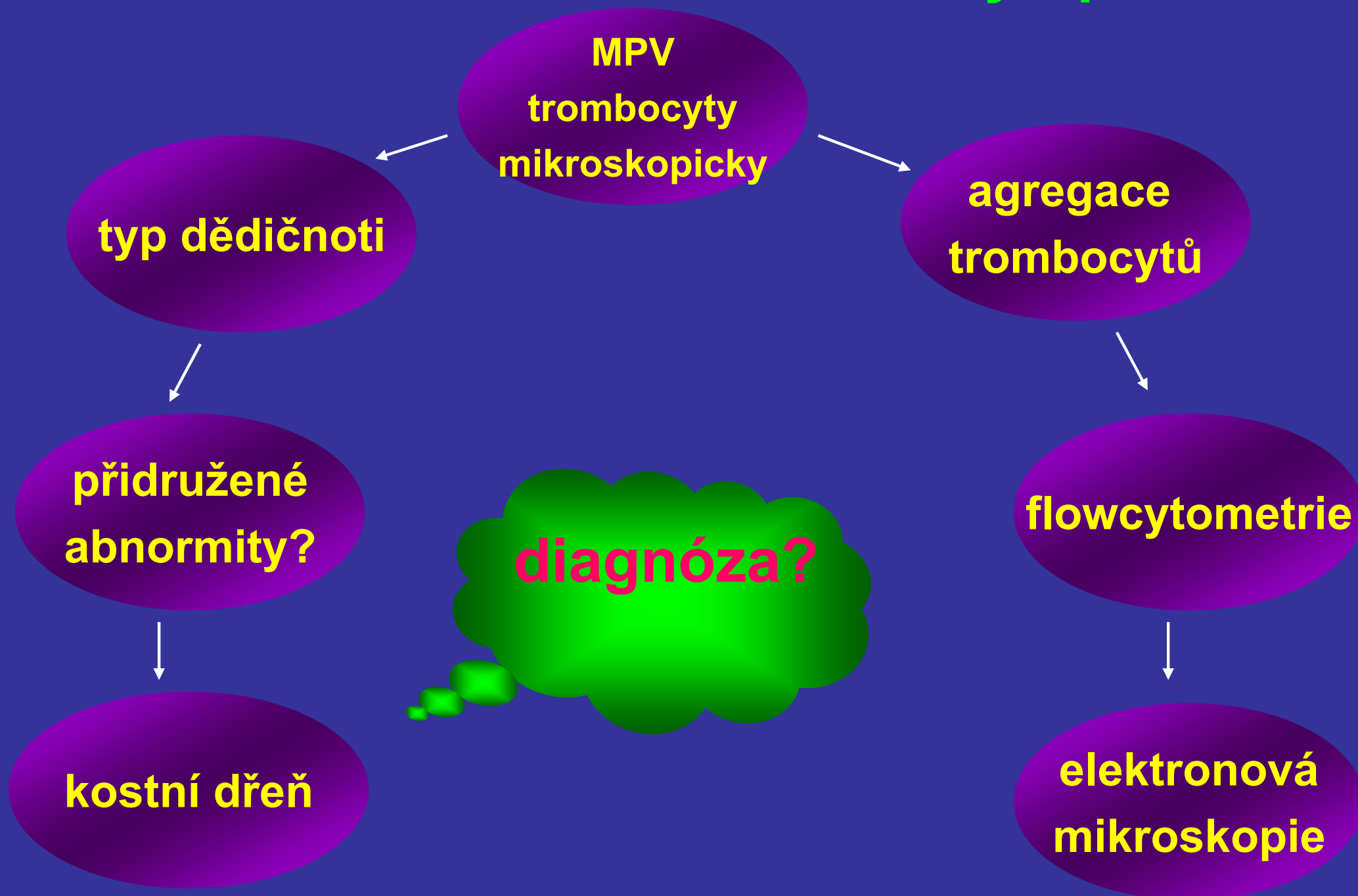
přidružené
abnormity?

flowcytometrie

diagnóza?

kostní dřeň

elektronová
mikroskopie



Získané trombocytopenie

- **zvýšený zánik v periférii:**
 - ITP: imunokomplexy (akutní) a protilátky (chronická)
 - aloimunní protilátky: novorozenecká, potransfúzní
 - hypersplenismus – redistribuce (doprovází hepatopatie)
 - antifosfolipidový sy
 - DIC, trombotické mikroangiopatie (TTP, HUS, MAHA)
 - diluční
 - HIT I, II
- **snížená produkce:**
 - toxické (lékové) vlivy
 - infiltrace dřeně malignitou (solidní TU, leukemie, lymfomy)
 - 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
- předpokládá se, že se jedná o genetickou odchylku Fcg-IIa destičkového receptoru
 - „high responder“ - histidin v pozici 131- vysoké riziko HIT
 - „low responder“ - arginin v pozici 131
- výskyt 4. - 15. den po nasazení heparinu
- počet trombo často $< 60 \times 10^9/l$
- důležitější je relativní pokles - o 50% HIT 2 vysoce pravděpodobné
- u 50% nemocných paradoxní trombózy - označováno HITT

HIT - typ 2 – diagnostika a léčba

- laboratorně (+ klinicky vyloučení jiné příčiny, event. trombóza):
 - pokles trombocytů - o 50%
 - agregace trombo - nízká senzitivita, vysoká specifita
 - ELISA pro komplex heparin-PF4 protilátky
 - nejvhodnější sledov. uvolnění ¹⁴C-serotoninu
 - cytoflowmetrie - IgG/M asociované s trombo
 - » - vysoká senzitivita, nízká specifita
 - HIPA - heparinem indukovaná aktivace destiček
- léčba:
 - zkřížená reaktivita mezi UFH a LMWH udávána i ve více než 60%; nejnižší je udávána u Fragminu (cca 25%)
 - Refludan (inhibitor IIa), Arixtra (oligosacharid s anti-Xa)

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

Terapie trombocytopenií / peníí

- **podpůrná medikace:**
 - Dicynone
 - antifibrinolytika
 - venofarmaka
- **DDAVP**
 - přímá stimulace agregace a sekrece
 - nepřímo elevací vWF
 - trombocytopenie (ne u defektu GPIIb/IIIa)
- **allogenní transplantace krvetvorných buněk**
 - Wiskott-Aldrich sy
 - Fanconiho anemie
- **kortikoidy**
 - v indikovaných případech (ITP)

Trombocytóza

Získané:

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