

Vrozené poruchy krevního srážení

P. Smejkal

Poruchy krevního srážení

- Stavy, kdy se v důsledku chybění nebo nedostatečné (nadbytečné) funkce některé z látek potřebných pro krevní srážení objevuje sklon ke krvácivým nebo trombotickým příhodám

Rozdělení poruch krevního srážení

Dle dědičnosti:

- Vrozené - porucha tvorby
 - dysproteinemie
- Získané - porucha tvorby
 - zvýšený obrat - spotřeba
 - ztráty

Dle projevů:

- Hypokoagulační poruchy – vedou ke krvácivým projevům
- Hyperkoagulační poruchy - projevy TEN

Vrozené krvácivé stavy - dělení dle etiologie

- cévní stěna (Ehler-Danlos, Rendu-Osler)
- trombocyto -
 - penie (TAR, Wiskot-Aldrich, Grey platelet sy)
 - patie (Glanzmann-Naegeli, Bernard-Soulier)
- plazmatické koagulace
 - hemofilie
 - von Willebrandova choroba
 - defekty ostatních koagulačních faktorů
 - a2-antiplazmin, PAI-1 ?

Krvácivé projevy

Nález	Prim.hemostáza	Koagulopatie
Petechie	typické	vzácné
Hluboké hematomy	vzácné	typické
Ekchymózy	malé, mnohočetné	velké a solitární
Kloubní	vzácné	typické
Slizniční	spontánně	po traumatu
Pozdní	vzácné	typické
Z ran	perzistentní, profuzní	minimální
Vznik krvác.	ihned	odloženě

Krvácivé projevy - laboratoř

- Počet trombocytů, aPTT, PT, fibrinogen, (TT, ReT)
- doba krvácení, PFA-100, vWF:RCo
- ověření počtu a morfologie trombocytů
- Rumpel-Leede test
- specifické vyšetření:
 - jednotlivých faktorů
 - trombocytárních funkcí

Frekvence hereditárních (AR) defektů koagulačních faktorů - homozygoti

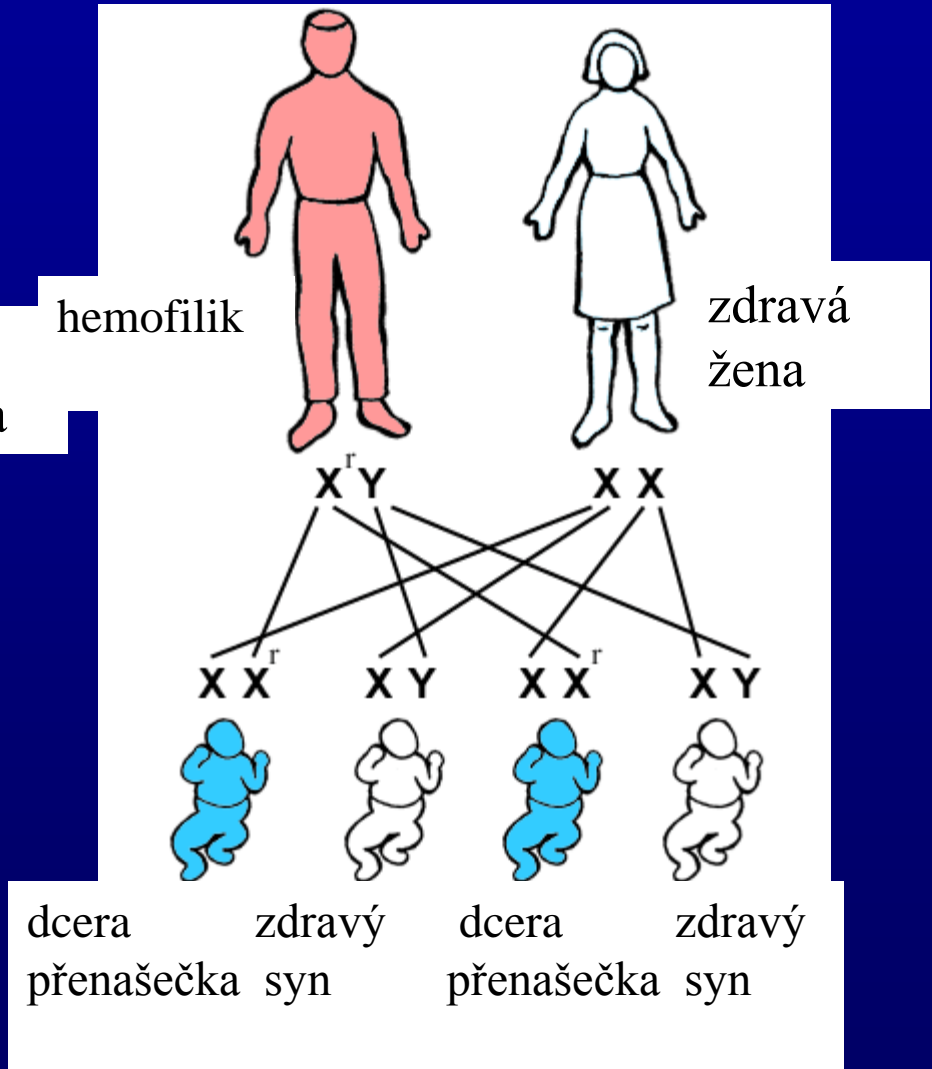
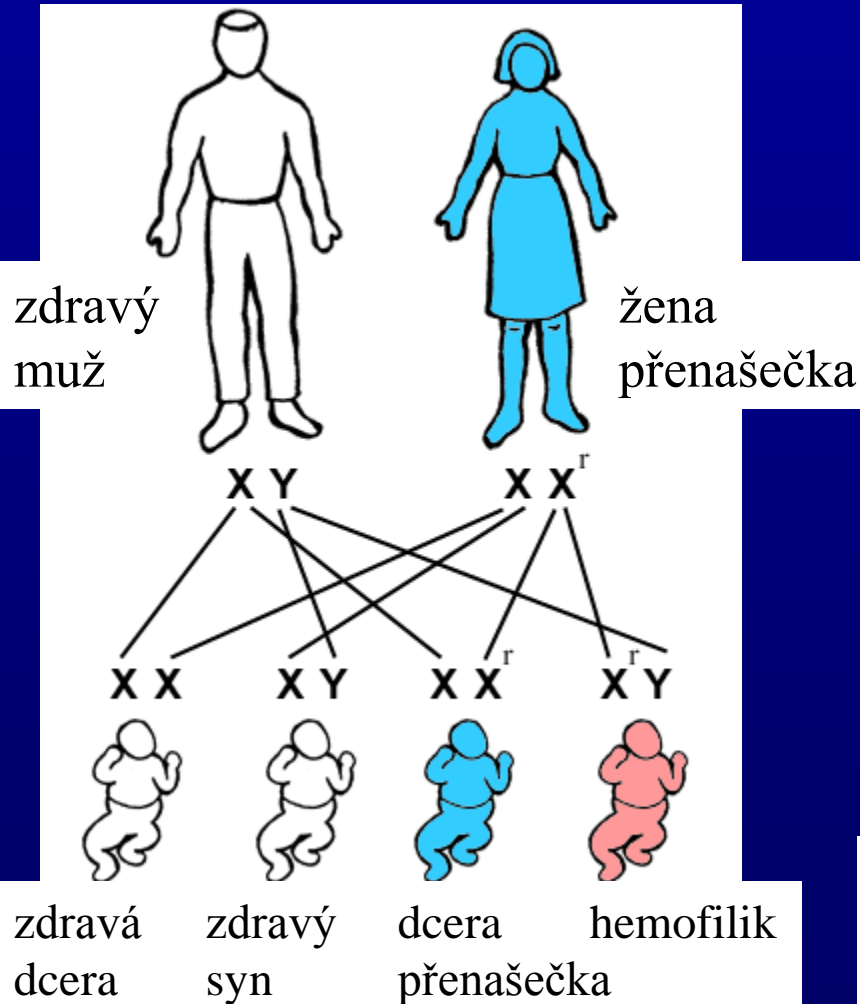
faktor odhadovaná prevalence v populaci

- Fibrinogen 1 : 1 000 000
- FII 1 : 2 000 000
- FV 1 : 1 000 000
- FVII 1 : 300 000 – 500 000
- FV+VIII 1 : 2 000 000
- FVIII (XR) 50 – 80 : 1 000 000
- FIX (XR) 10 – 15 : 1 000 000
- FX 1 : 1 000 000
- FXI 1 : 1 000 000 (Ashkenazi 8% heterozygoti)
- FXIII 1 : 1 000 000
- MvW (AD) 100 – 1 000 : 1 000 000

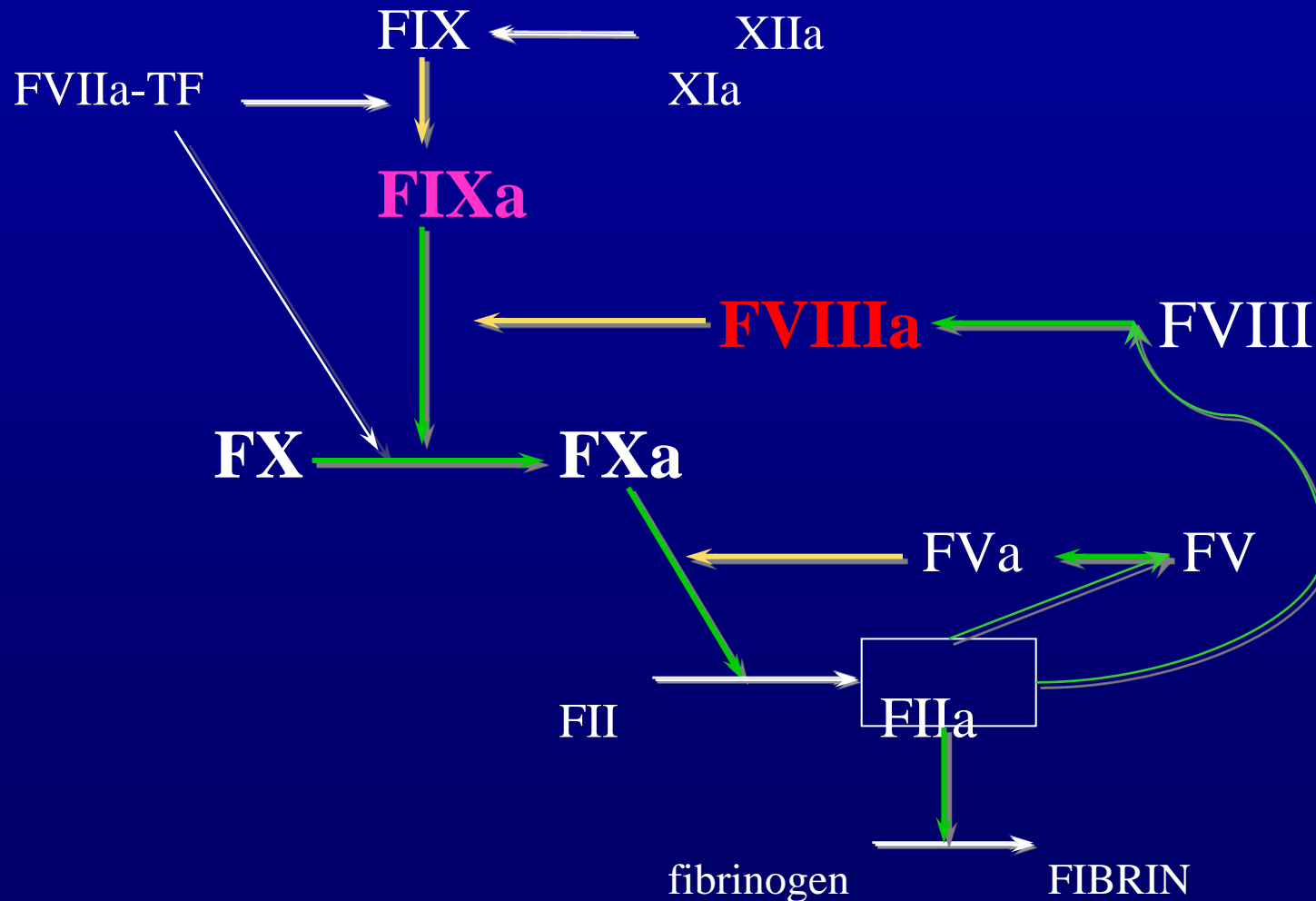
HEMOFÍLIE - výskyt

- Sporadický výskyt v rodině (25 - 30%)
 - po generace přenos pouze ženami
 - bez klinické manifestace
 - nová mutace
- Hemofilie A (FVIII) 1/5000 – 10000 chlapců
- Hemofilie B (FIX) 1/30000-50000 chlapců

Hemofílie – pohlavně vázaná dědičnost (X-recesivní)



Působení FVIII a IX v koagulační kaskádě – TENÁZA



Hemofilie A, B - diagnostika

- krvácení: - především do kloubů a svalů
- těžká < 1% FVIII / FIX
 - časté spont. krvácení (1 x měs.)
- středně těžká 1 - 5% FVIII / FIX
 - spont. krvácení méně často
- lehká 5 - 40% FVIII / FIX
 - krvácení potraumatické

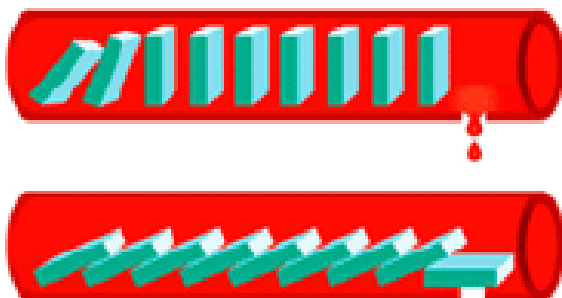
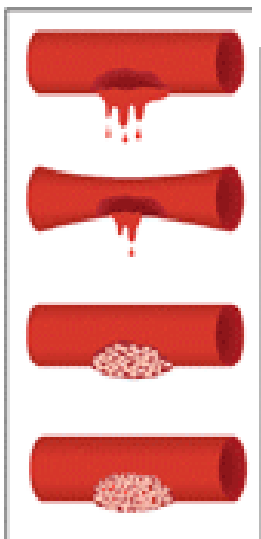
HEMOFÍLIE - diagnostika

	hemofílie	M. von Willebrand
• aPTT	↑	↑ - N
• PT (Quick)	N	N
• doba krvácení	N	N ↑ ↑
• PFA-100	N	↑ ↑
• stanovení	FVIII	vWF, FVIII

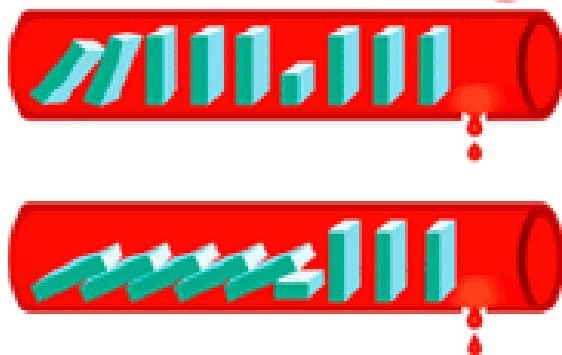
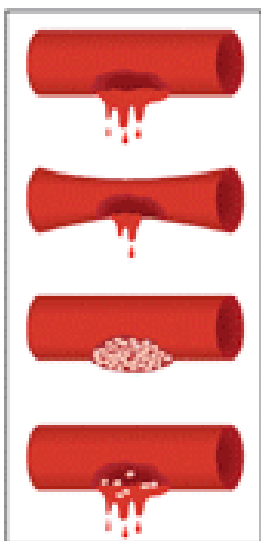
Stanovení FVIII/IX metodou:

- **Jednofázovou:**
 - Běžná praxe
- **Chromogenní (fotometricky)**
- **Dvoufázovou:**
 - Upouští se
- Část pacientů s lehkou HA má diskrepanci mezi metodou jednofázovou a chromogenní (dvoufázovou)
 - **5-10% LHA nižší hladina chromogenně**
 - tato většinou směrodatná pro krvácivé projevy
 - dáno mutací genu pro FVIII

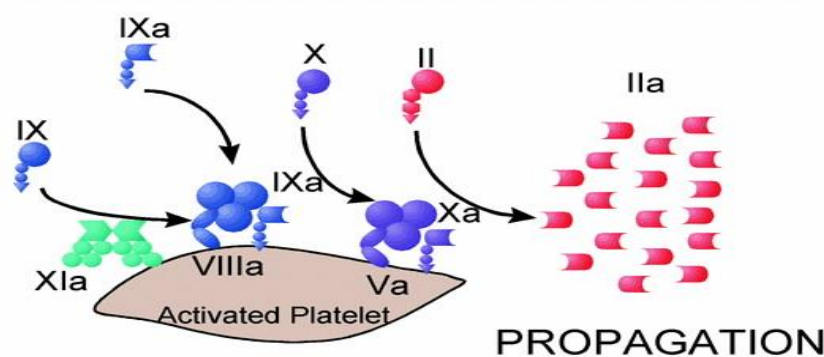
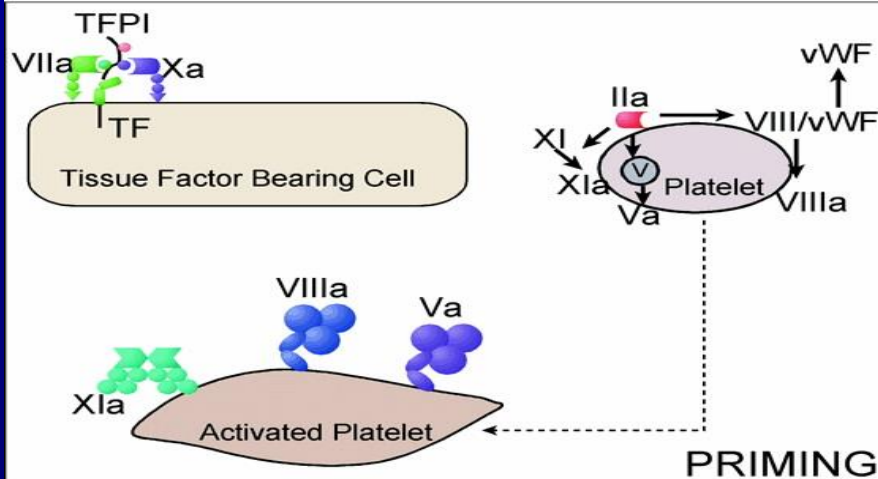
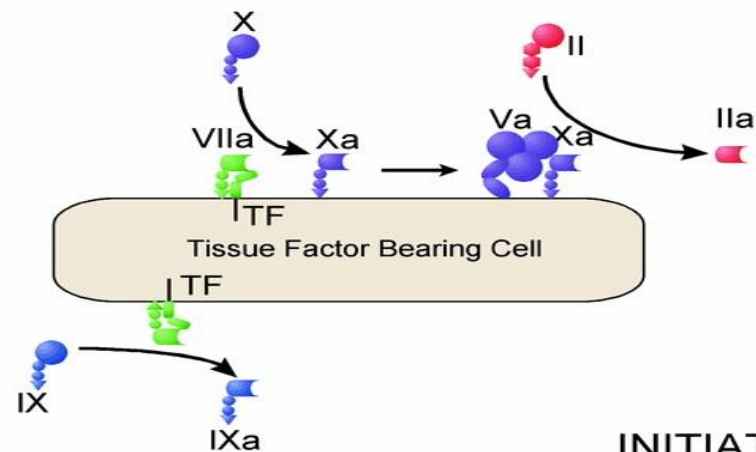
normální hemostáza



hemostáza hemofilika



© Copyright World Federation of Hemophilia



**Nejčastější projev:
krvácení do kloubu**

- chvění
- brnění
- horkost

- bolest
- omezení pohybu
- horkost
- otok

- otok
- bolest
- omezení pohybu
 - ztuhlost
 - svalová slabost



HEMOFÍLIE – prenatální diagnostika

- u těžké hemofilie především:
 - 40% těžké hemofilie A: inverze v intronu 22
- nutnost UZV ověření délky gravidity
- odběr choriových klků 11. – 13. týden
- amniocentéza 15. – 18. týden
- izolace fetální DNA z krve matky:
 - od 7.- 9. týdne
- preimplantační diagnostika:
 - na úrovni 8 buněk

Hemofílie – způsoby léčby koncentráty (plazmatické, rekombinantní)

- **FVIII:C 1 j. / kg vzestup o 2%** **t₂ = 12 h**
- **FIX:C 1 j. / kg vzestup o 1%** **t₂ = 18 h**

Profylaxe

- primární:
- sekundární (v ČR od konce 90. let)
- krátkodobá

On demand

- při krvácení
- preventivně při operacích

Hemofílie - profylaxe

- hladina faktoru > 1 - 2%
- A: FVIII 25 – 40 j./kg 3 x týdně
- B: FIX 25 – 40 j./kg 2 x týdně
- 2 - 3 x ↑ vyšší spotřeba (dražší) než léčba on demand
- pokles:
 - život ohrožujících krvácení
 - krvácení do kloubů
 - poškození kloubů, tím i nutnosti ortopedických výkonů

Léčba hemofílie

krvácení (operace)	FVIII (%) FIX (%)	minim. hladina první týden (%)	intervaly podání	délka podávání
drobné kloubní a sval. krvácení	30 - 40 25 - 30		12 - 24 h. 24 - 48 h.	1 – 3 dávky 1 – 2 dávky
malé operace fraktury	50 – 60 40 – 50	30 - 50 30 - 40	12 h. 12 - 24 h.	6 - 10 dnů 6 - 10 dnů
pokročilé svalové krvác.	50 – 80 40 – 60	30 – 50 30 – 40	8 – 12 h. 12 – 24 h.	9 – 14 dnů 9 - 14 dnů
velké operace krvác. do CNS	70 – 100 60 – 80	50 – 70 40 – 60	4 – 12 h. 6 – 24 h.	14-21 dnů 14-21 dnů

Hemofílie – léčba

Rekombinantní koncentráty:

- Generace:
 - I. s lidským albuminem
 - II. lidské proteiny během výroby (některé s delecí B domény)
 - III. bez styku s lidskými proteiny (některé s delecí B domény)
 - IV. Syntetizované lidskými embryonálními buňkami
- 4 000 j / mg
- prioritně:
 - PUPs
 - HCV a HIV negativní
 - HIV pozitivní
 - HCV pozitivní
- SRN
 - rFVIII 0,79 € / 1 j pdFVIII 0,63 € / 1 j
 - 0,68 0,51

**Auerswald, Haemophilia 2004*

**Abbonizio, Haemophilia 2014*

Modifikované koncentráty FVIII / FIX

Prodloužení t2:

- Pegylované
- Pegylované lysozomální
- Fúzané s albuminem
- Vázané s Fc fragmentem imunoglobulinu (Elocta®)
- Rezistentní k inaktivaci
- ↓ vazba na LRP

Zlepšení funkční aktivita:

- ↑ aktivace
- ↑ specifická aktivita
- Hybridní FIX/FX

* Pipe SW. Textbook of Haemophilia 2010

Hemofilie – genová terapie

Obnovení syntézy FVIII/FIX přenosem jeho genu:

- **In vivo:**
 - přímo i.v., i.m., s.c.
- **Ex vivo:**
 - Do buněk ex vivo a jejich implantace
 - Využití HSC, MSC, EPC

Vektory:

- **Virové:**
 - retroviry - s.c.: onkogenní riziko
 - adenoviry - i.m.: eliminace imunitním systémem
 - adeno-asociované viry – i.m.: jen menší geny – hemofilie B
- **Jiné způsoby:**
 - Liposomy, nanopartikule
 - Elektroporace
 - Přímá injekce

Schéma genové terapie hemofilie B adenoasociovaným virem (AAV)

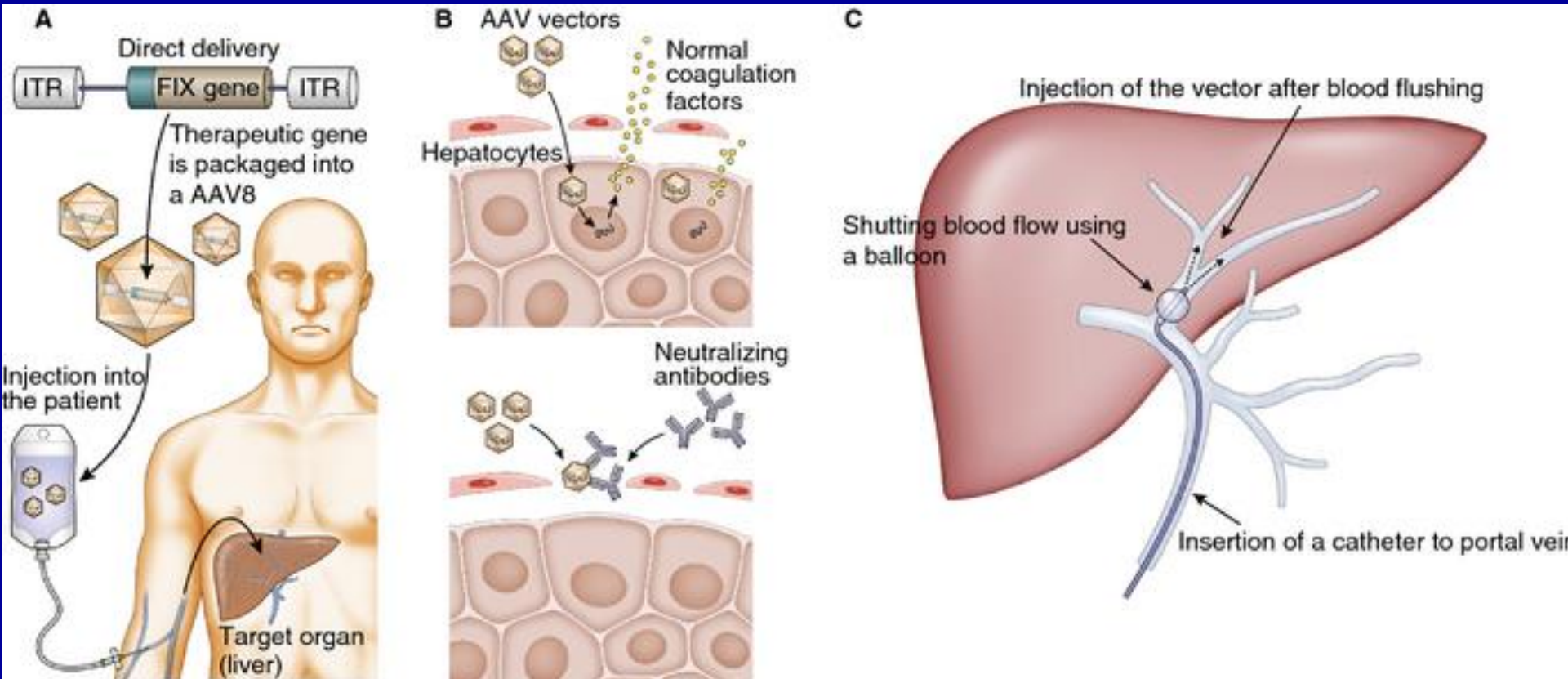
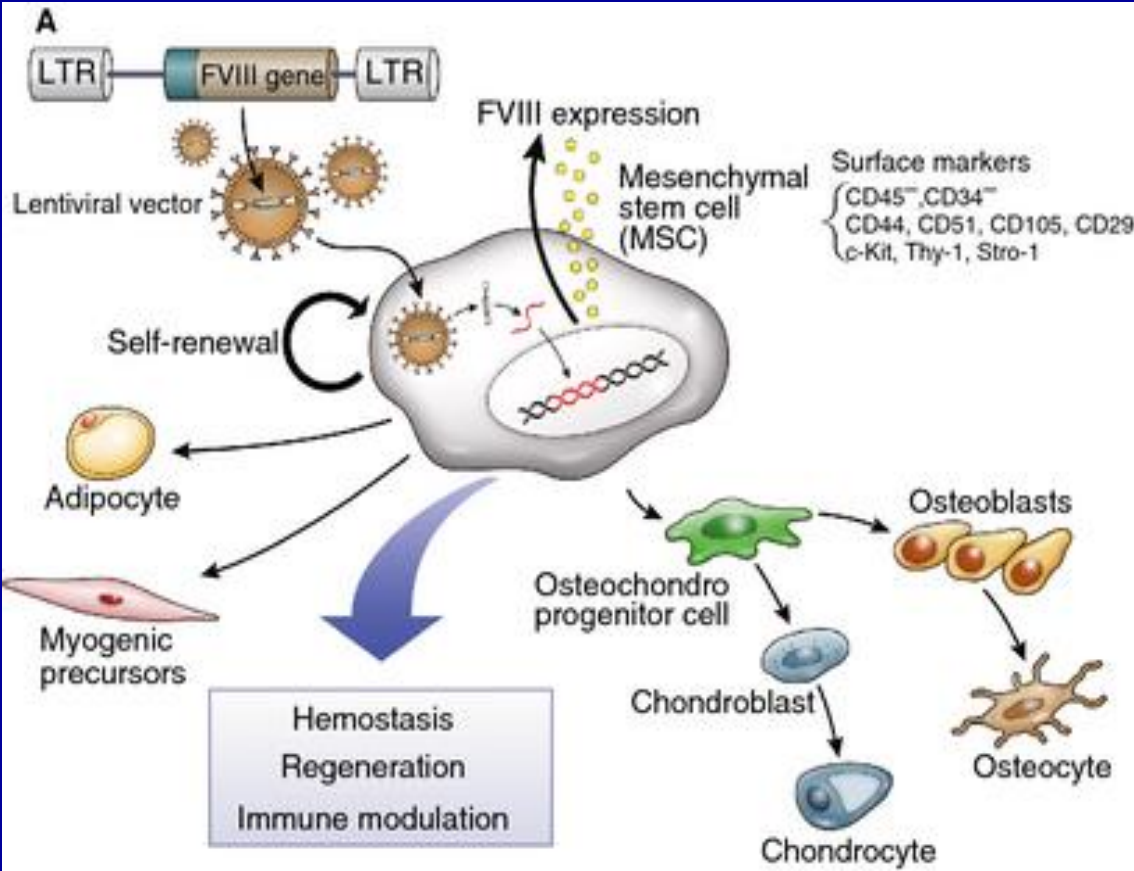


Schéma genové terapie hemofilie A přenosem mesenchymálními buňkami s lentivirem jako vektor



Genová terapie – hemofilie B

- těžká forma
- AAV8
- 1/3 pacientů má neutralizující protilátky
- desítky pacientů od roku 2011:
 - 2×10^{11} vg/kg - 2×10^{12} vg/kg
 - 3-4 roky hladina FIX 1-6%
 - ↑ JT 6.-12. týden při použití vyšší nálože
 - destrukce hepatocytů T-lymfocyty
 - prevence kortikoidy
 - Padua mutant FIX (p.R338L):
 - 5-10x vyšší koagulační aktivita
 - hladina FIX 18-80%
- Riziko ztráty s obnovou hepatocytů

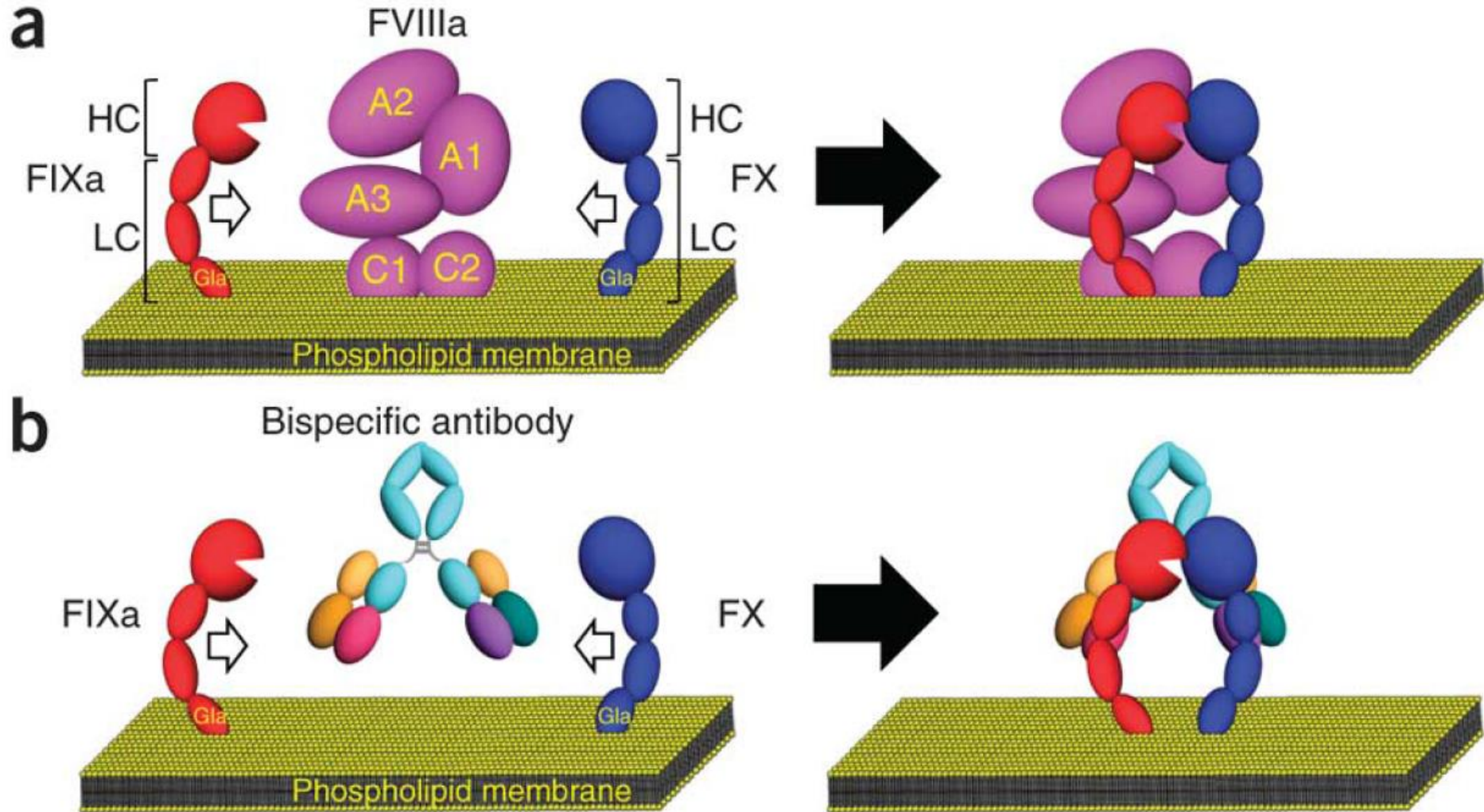
**Dolan G. Eur J Haematol. 2017;99(Suppl.87): 3-9*

**Nathwani AC. Human Gene Therapy 2017;28: 1004-12*

Genová terapie – hemofilie A

- celý gen 7 kb
- od roku 2015
- AAV5, 15 pacientů:
 - nutnost delece B-domény (4,4 kb)
 - 7: 6×10^{13} vg/kg: po 1 roce FVIII v normě
 - 6: 4×10^{13} vg/kg: po 1 roce FVIII v normě 3x, 3x > 5 %
 - 3: 6×10^{12} vg/kg a 2×10^{13} vg/kg: bez efektu
- Lentivirus
 - možnost přenosu i většího genu

Bispecifická protilátka simulující funkci FVIII (ACE910, emicizumab)



Emicizumab – volba dávky a cílová hladina

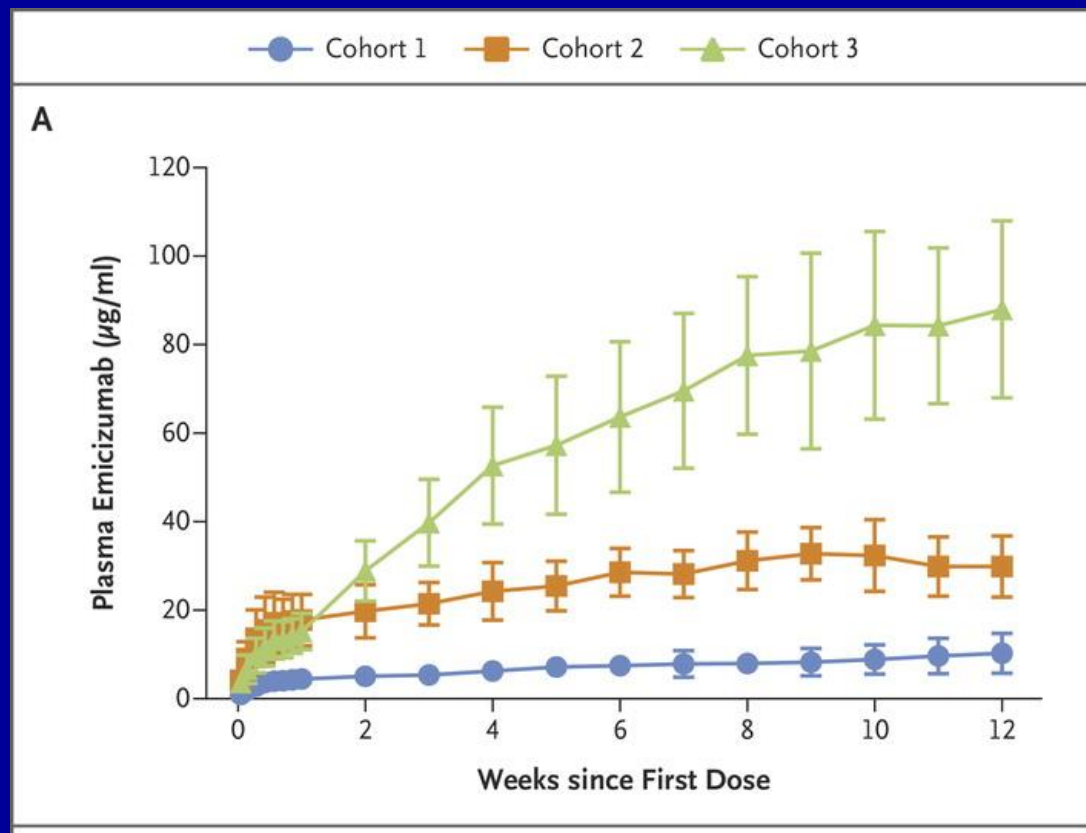
- Dávkování 1x týdně s.c.:

- Skupina 1: 0,3 mg/kg ■
- Skupina 2: 1 mg/kg ■
- Skupina 3: 3 mg/kg ■

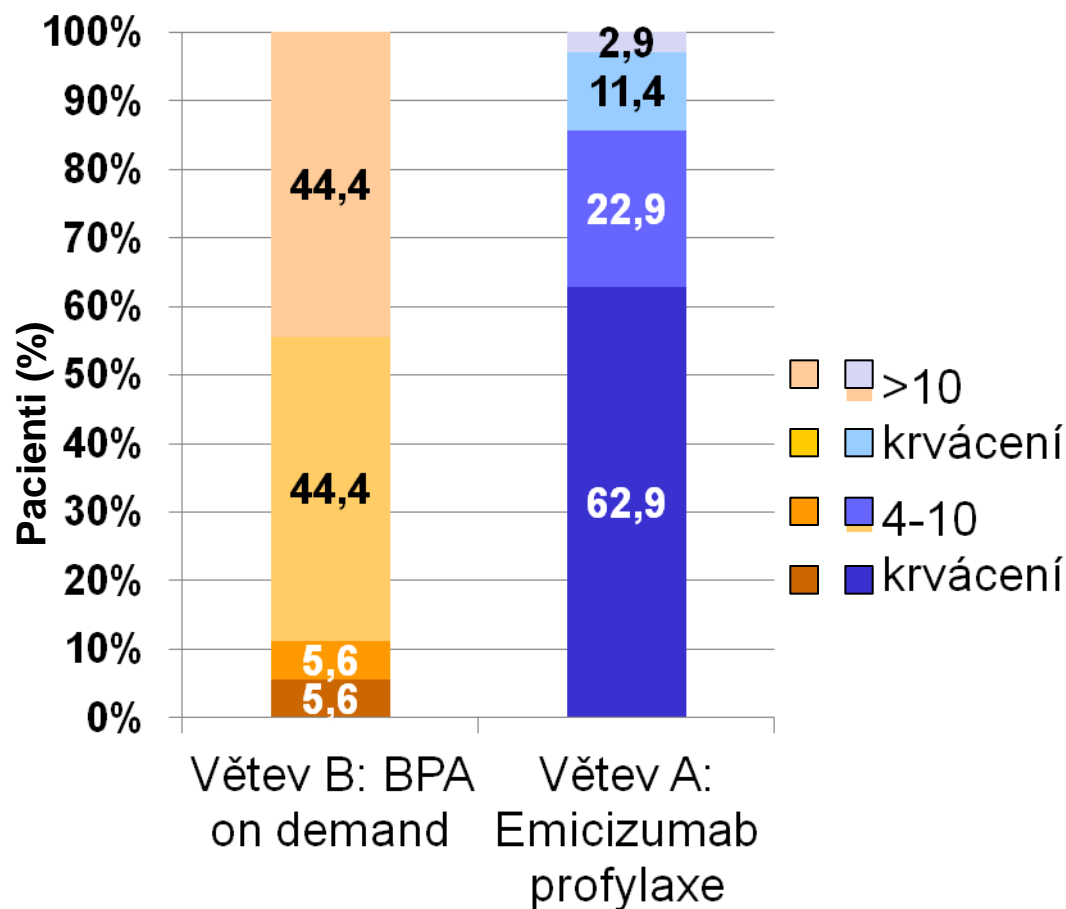
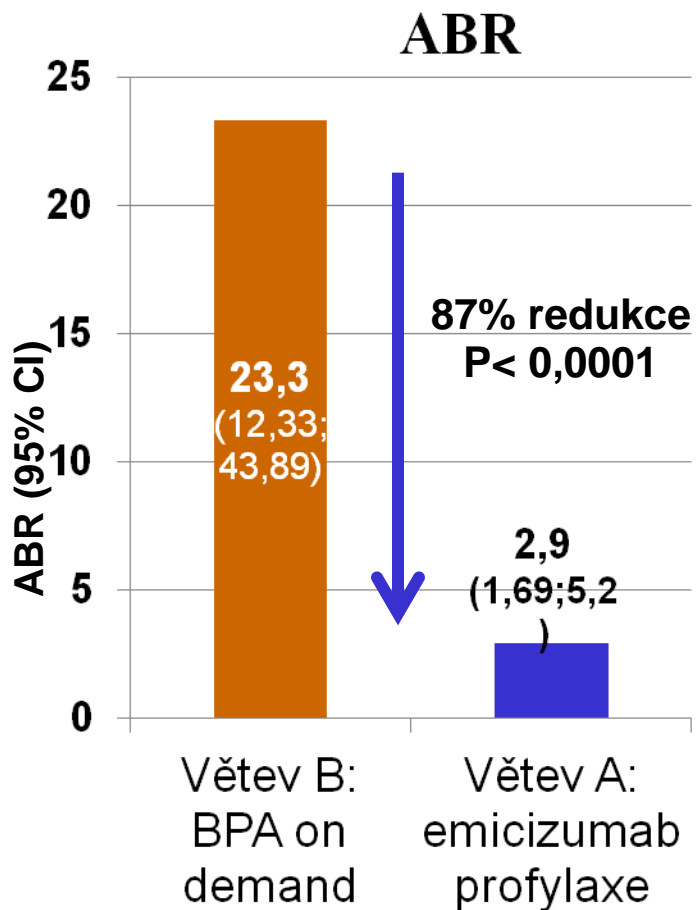
- „Trough level“ 12. týden:

- 10 μg ~ 3 % FVIII ■
- 30 μg ~ 9 % FVIII ■
- 90 μg ~ 27 % FVIII ■

- 30-50 μg ~ 10-15% FVIII



Počet krvácení ročně (ABR) větev A vs větev B



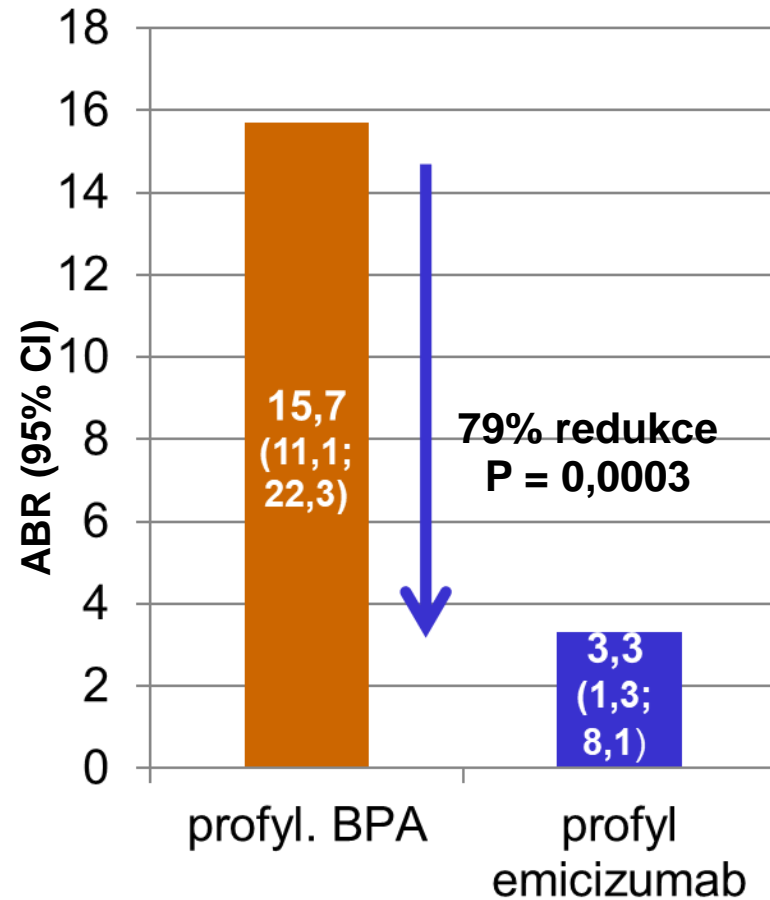
Median: 18,8 0

*Oldenburg J et al. ISTH, 2017

Intraindividuální porovnání

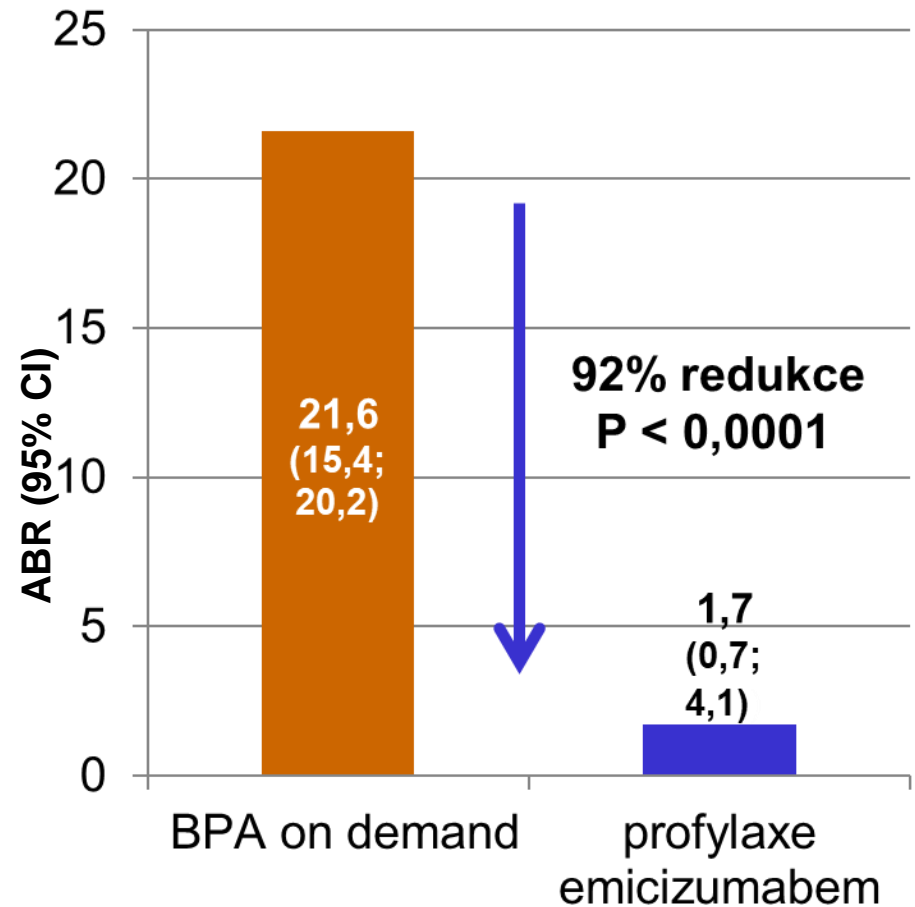
Větev C:

ABR



Větev A:

ABR



*Oldenburg J et al. N Engl J Med 2017;377:809-18

HEMOFÍLIE - výskyt inhibitoru

- alogenní oprotilátky
- protilátky většinou třídy IgG
- **1 BU / ml = inhibice faktoru ve zdravé plazmě na 50% po 2 hod. inkubaci s plazmou pacienta**
 - Bethesda jednotka
- PUP (previous untreated patient) s těžkou hemofílií A:
 - medián vzniku je 12. den expozice (aplikace) koncentrátům FVIII/FIX (9 – 36), oj. > 100 den aplikace

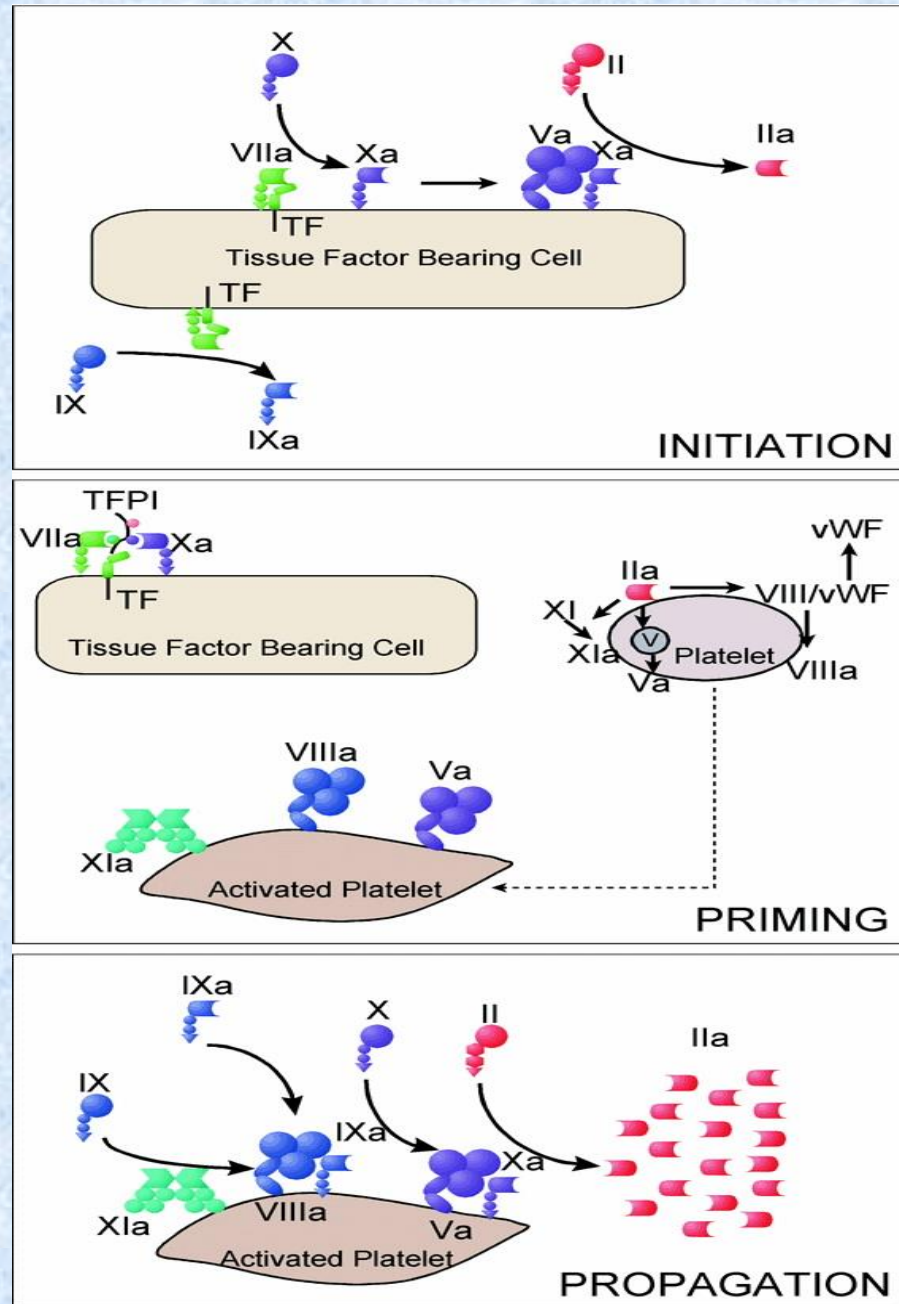
HEMOFÍLIE - chování inhibitoru

responder	"Low"	"High"
• odpověď na podání FVIII	žádná / pomalý vzestup titru	vzestup titru
• titr inhibitoru	< 5 B.U./ml	> 5 B.U./ml
• výskyt	cca 1/3	cca 2/3

HEMOFÍLIE – inhibitor - léčba krvácení

- koncentráty lidského FVIII (< 5 BU/ml)
- koncentráty vepřového FVIII – riziko parvoviru
- koncentráty aktivovaných faktorů protrombinového komplexu (FVIIa, FII, FIX, FX) FEIBA
- koncentrát rFVIIa NovoSeven
- DDAVP
- plazmaferéza (s imunoadsorpcí imunoglobulinů)

Proč FVIIa?



Imunotoleranční léčba (ITI - immune tolerance induction)

- **Bonnský protokol:**
 - 200 j / kg / den
 - Úspěšnost: 85%
- **Malmö:**
 - plazmaferéza s imunoadsorpcí IgG
 - imunosuprese cyklofosfamidem
 - substituce FVIII – vysycení inhibitoru
 - úspěšnost asi 50%
- **low dose protokol:**
 - < 50 j / kg / denně či 3x týdně
 - u LR
 - úspěšnost: 67%

Defekty ostatních koagulačních faktorů

- dědičnost AR
- vzácné - těžké defekty 1 / 1 000 000
(homozygoti, dvojití heterozygoti)
- **dysfibrinogenemie** (AD, krvácení i TEN)
- snížení: - **fibrinogen, F II, V, VII, X, XI, XII**
FXIII, α 2AP, PAI, prekalkrein,
HMW kininogen, protein Z

Vliv gravidity:

↑ Fbg, FVII, FVIII, vWF, FX, FXII, PAI

↓ PS

Vliv HAK:

↑ Fbg, FVII, FVIII, vWF, FIX, FXII, FII, X, XI

↓ PS, AT III

Vliv zánětu:

↑ Fbg, FV, FVII, FVIII, vWF

↑ α 1AT, PAI, tPA, α 2MG, Plg

Vliv fyz. i psych. stresu:

↑ Fbg, FVII, FVIII, vWF

↑ tPA

↓ α 2AP, Plg

Faktor	PT	aPTT	TT	DK	hladina F
A-fbg	↑	↑	↑	↑	fbg 0
Dys - fbg	↑	↑	↑	N	fbg N - ↓, ↑ reptilázový čas
II	↑	↑	N	N	< 30 %
V	↑	↑	N	N - ↑	< 30 %
VII	↑	N	N	N	< 30 %
VIII	N	↑	N	N	< 30 %
vWCH	N	↑ - N	N	↑ - N	FVIII: N - ↓, vWF:RCo < 50 %*
IX	N	↑	N	N	< 30 %
X	↑	↑	N	N	< 30 %
XI	N	↑	N	N	< 40 %
XII	N	↑	N	N	< 40 %
XIII	N	N	N	N	↑ rozpustnost koagula
PK	N	↑	N	N	
HMWK	N	↑	N	N	
α_2 AP	N	N	N	N	
PAI-1	N	N	N	N	

N – normál ↑ - zvýšení

↓ - snížení

* závisí na krevní skupině

Faktor	Krvácení	Laboratorní nález	Minim. hemostat. hladina	Léčba
fbg	z pupečníku, CNS, měkké tkáně, klouby	PT, aPTT, TT	0,5 - 1 g / l	ČZP, fibrinogen
II	měkké tkáně	PT a aPTT	20 - 30 %	koncentrát PCC
V	z pupečníku, do kloubů, ekchymózy	PT a aPTT	15 - 20 %	ČZP
VII	<1% = hemofilické	PT	15 - 20 %	koncentrát FVII, PCC
VIII	viz text	aPTT	40 - 50 %	koncentrát FVIII
vWCH	viz text	aPTT a DK	40 - 50 %	koncentrát FVIII obsahující vWF
IX	viz text	aPTT	40 - 50 %	koncentrát FIX
X	<1% = hemofilické	PT a aPTT	15 - 20 %	koncentrát PCC
XI	po poprodu, trhání zubů, prostatektomii	aPTT	30% (45%)	ČZP
XII	není	aPTT		nevyžaduje léčbu
XIII	z pupečníku, CNS, měkké tkáně, klouby	Norma	3 - 5 % (30%)	Koncentrát FXIII, kryoprecipitát, ČZP
PK	není	aPTT		nevyžaduje léčbu
HMWK	není	aPTT		nevyžaduje léčbu
a2AP	hemofilické, do kostí	zkrácená EF	neurčeno	antifibrinolytika, ČZP
PAI-1	traumatické, pooperační	zkrácená EF	neurčeno	antifibrinolytika, ČZP

Dysfibrinogenemie

- **Diagnostika:**

- ↑ TT i reptilázový čas, ale i normální i ↓
- **Antigen > funkční aktivita (Clauss)**

- Fenotyp (většinou AD):

- **Asymptomatické** 55% (A α Arg 16 His)
- **Krvácení** 25% (A α Gly 17 Val)
- **Trombóza** 20% (Arg 554 cys)

- Screening trombofilie

- Popsáno 330 mutací

- **Terapie:**

- Krvácení: jako u afibrinogenemie
- Trombózy: LMWH, kumariny
- Potraty
 - LMWH
 - substituce

Renální amyloidóza:

- mutace v řetězci A α
- kuagulační fu v normě
- terapie
 - transplantace jater

Defekt FXIII

- koagulogram v normě
- ↑ rozpustnost koagula v močovině
- krvácení z pupečníku, špatné hojení ran, potraty
- 1-3% (30-60%)
- koncentrát FXIII, kryoprecipitát, MP
 - profylaxe á 4 - 5 týdnů (ICH)
 - á 3 týdny v graviditě při opak. abortech

Kombinované defekty

typ

- I FV+VIII (ERGIC-53)
- II FVIII+IX
- III FII+VII+IX+X, PC, PS, porucha:
- karboxylace - reduktázy vit. K
- IV FVII+VIII
- V FVIII+IX+XI
- VI FIX+XI

Defekty koagulačních faktorů

- **FXII** – ↑ aPTT
 - není indikace MP
 - **suspektní trombofilní stav - nejednoznačné**
- **prekalikren, HMW kininogen** - ↑ aPTT
- - není indikace MP
- **PZ** – **ZK v normě, u části patologie Rumpel-Leede**
 - **úloha při vazbě IIa na fosfolipidy**
 - **kofaktor při inaktivaci FXa ZPI**
 - **klinická významnost ne zcela jasná**

Krvácivé projevy - laboratoř

- **počet trombocytů**
 - ověření počtu a morfologie trombocytů
- **aPTT, PT, fibrinogen, (TT, ReT)**
- **doba krvácení, PFA-100, vWF:RCo**
- **specifické vyšetření jednotlivých faktorů**
- **vyšetření trombocytárních funkcí**

aPTT – příčiny prodloužení

- **deficit:**
 - FVIII, FIX, FXI, FXII
 - FII, FV, FX
- **lupus antikoagulans**
- **přítomnost heparinu (↑ TČ, norma rept. čas)**
 - slouží k monitoraci léčby heparinem
- **Pradaxa (↑ ↑ ↑ TČ)**
- **špatná technika odběru (z kanyly)**
- **vzácně získaný inhibitor (většinou FVIII)**
- **vysoký hematokrit (srdeční vady)**
- **těžká hypofibrinogenemie**

PT – příčiny prodloužení

- **deficit:**
 - **FVII**
 - **FII, FV, FX**
- **Léčba**
 - **Warfarinem: slouží k monitoraci léčby Warfarinem**
 - **Xareltem, Eliquisem**
- lupus antikoagulans
- vysoký hematokrit (srdeční vady)
- těžká hypofibrinogenemie
- extrémně vzácně získaný inhibitor