

# 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

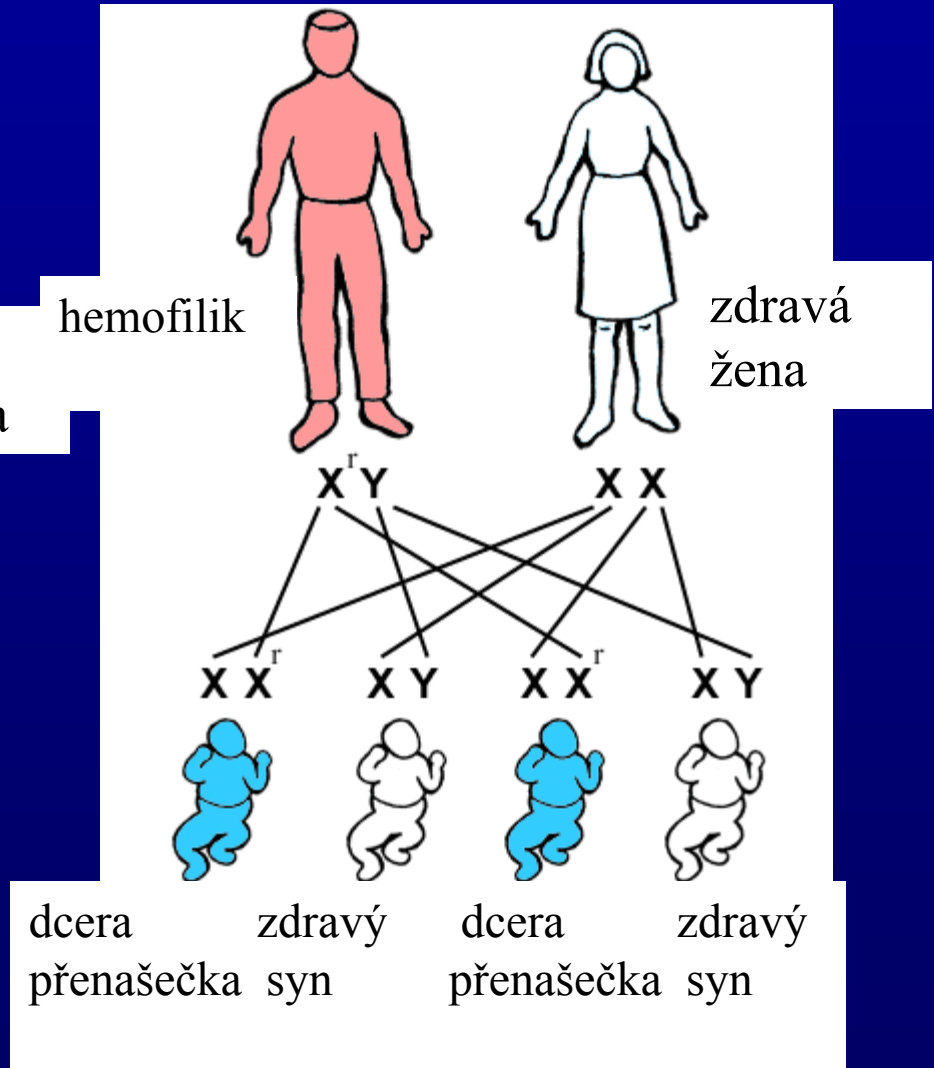
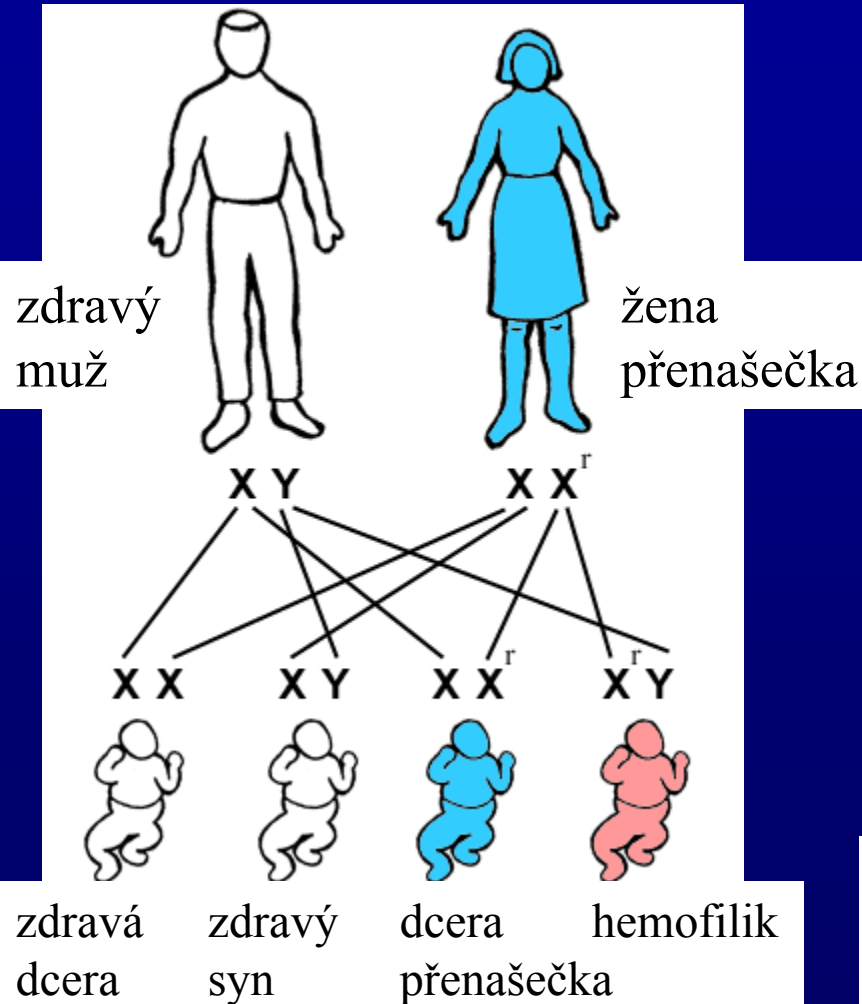
- Fibrinogen                      1 : 1 000 000
- FII                                      1 : 2 000 000
- FV                                      1 : 1 000 000
- FVII                                    1 : 300 000 – 500 000
- FV+VIII                            1 : 2 000 000
- FVIII (XR)                        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

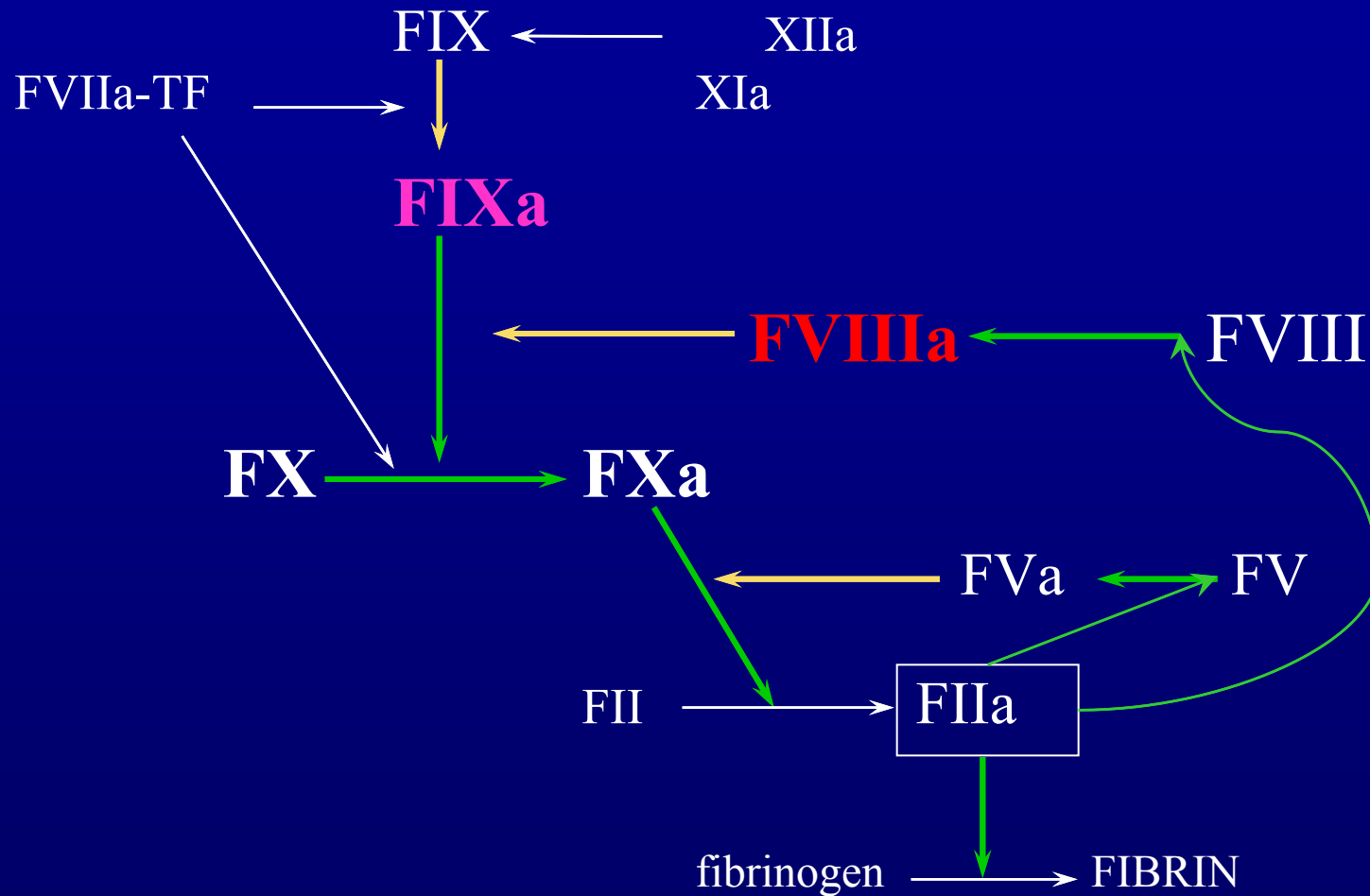
- Sporadický výskyt v rodině (25 - 30%)
  - po generace přenos pouze ženami
  - bez klinické manifestace
  - nová mutace
- Hemofilie A (FVIII) 1/5000 – 10000 chlapců
- Hemofilie B (FIX) 1/30000-50000 chlapců



# 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

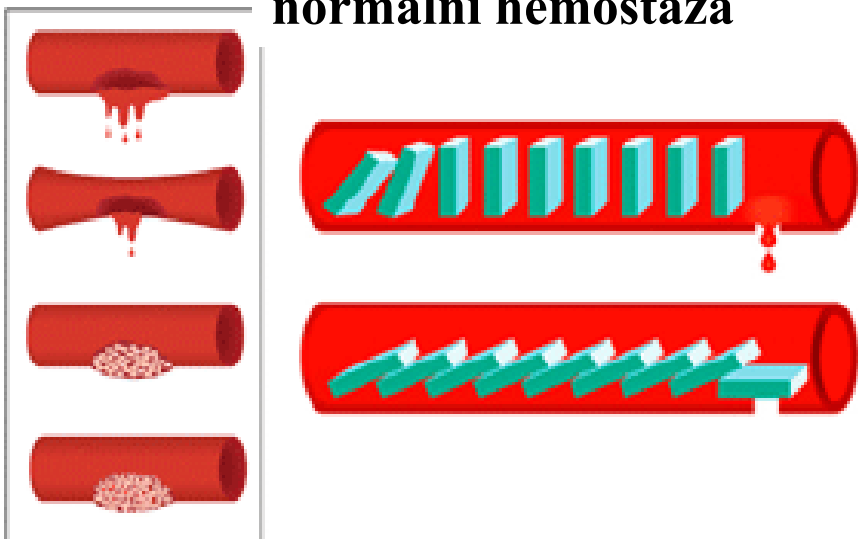
# HEMOFÍLIE - diagnostika

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

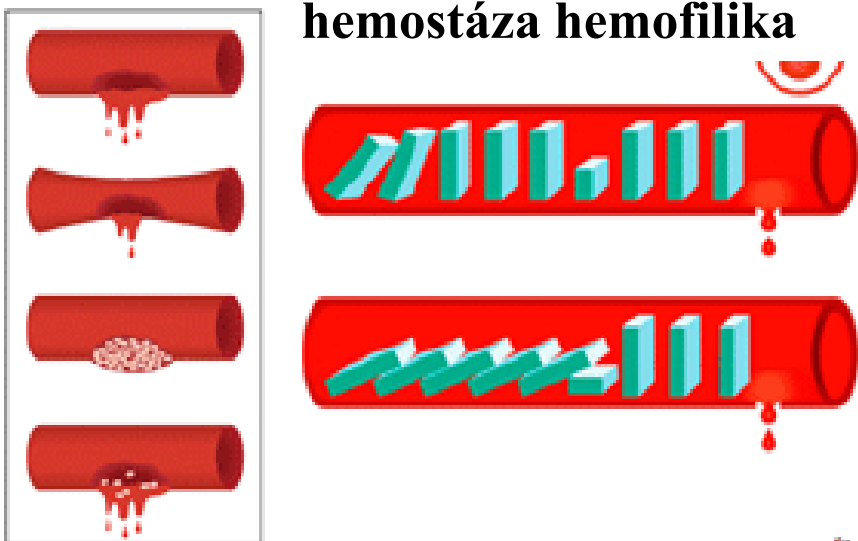
# Stanovení FVIII/IX metodou:

- **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 směřovatná pro krvácivé projevy
    - dáno mutací genu pro FVIII

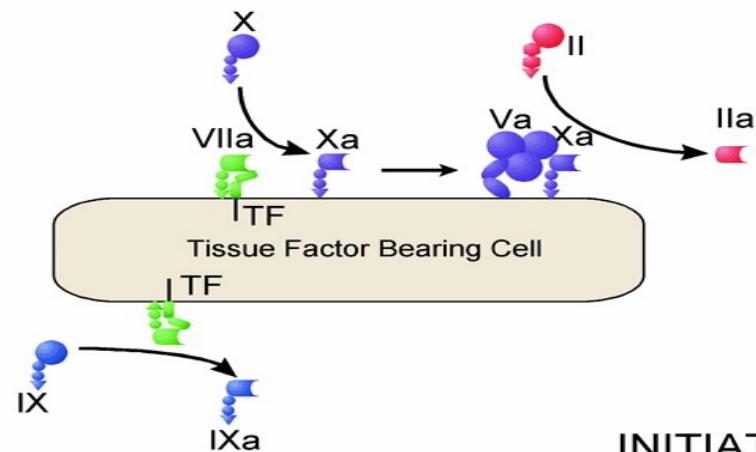
## normální hemostáza



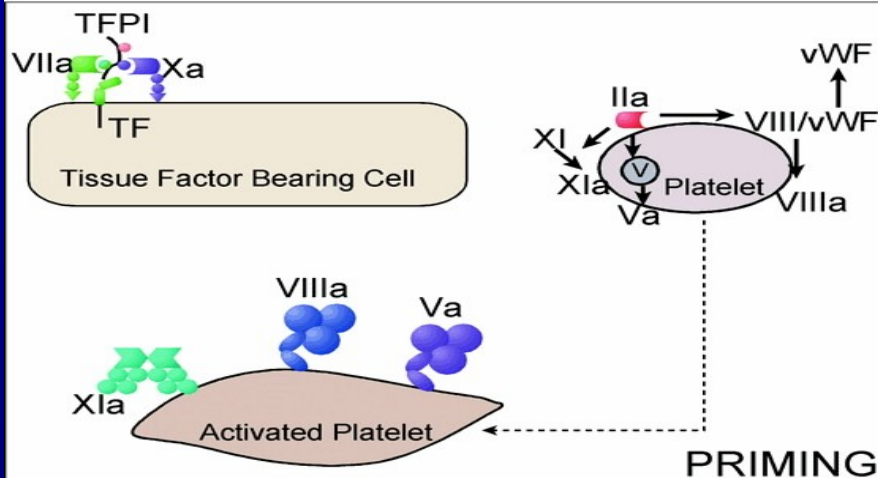
## hemostáza hemofilika



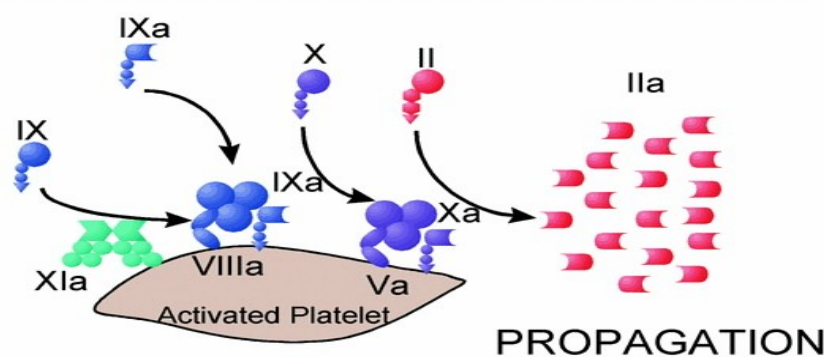
© Copyright World Federation of Hemophilia



INITIATION

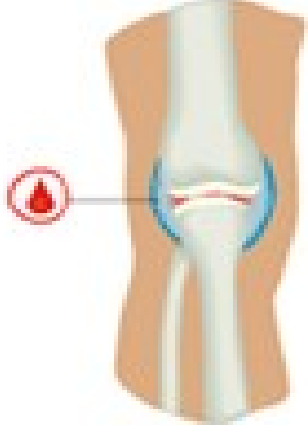


PRIMING

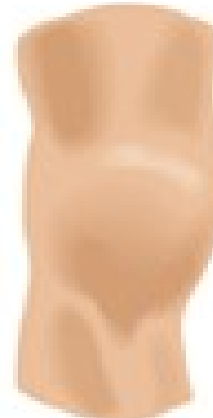


PROPAGATION

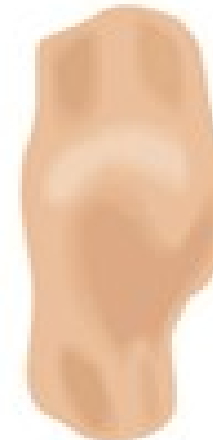
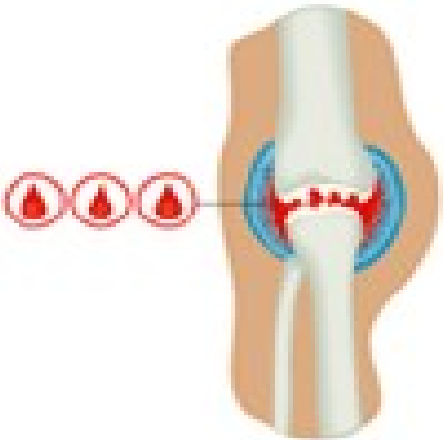
**Nejčastější projev:  
krvácení do kloubu**



- 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%** **t<sub>2</sub> = 12 h**
- **FIX:C 1 j. / kg vzestup o 1%** **t<sub>2</sub> = 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

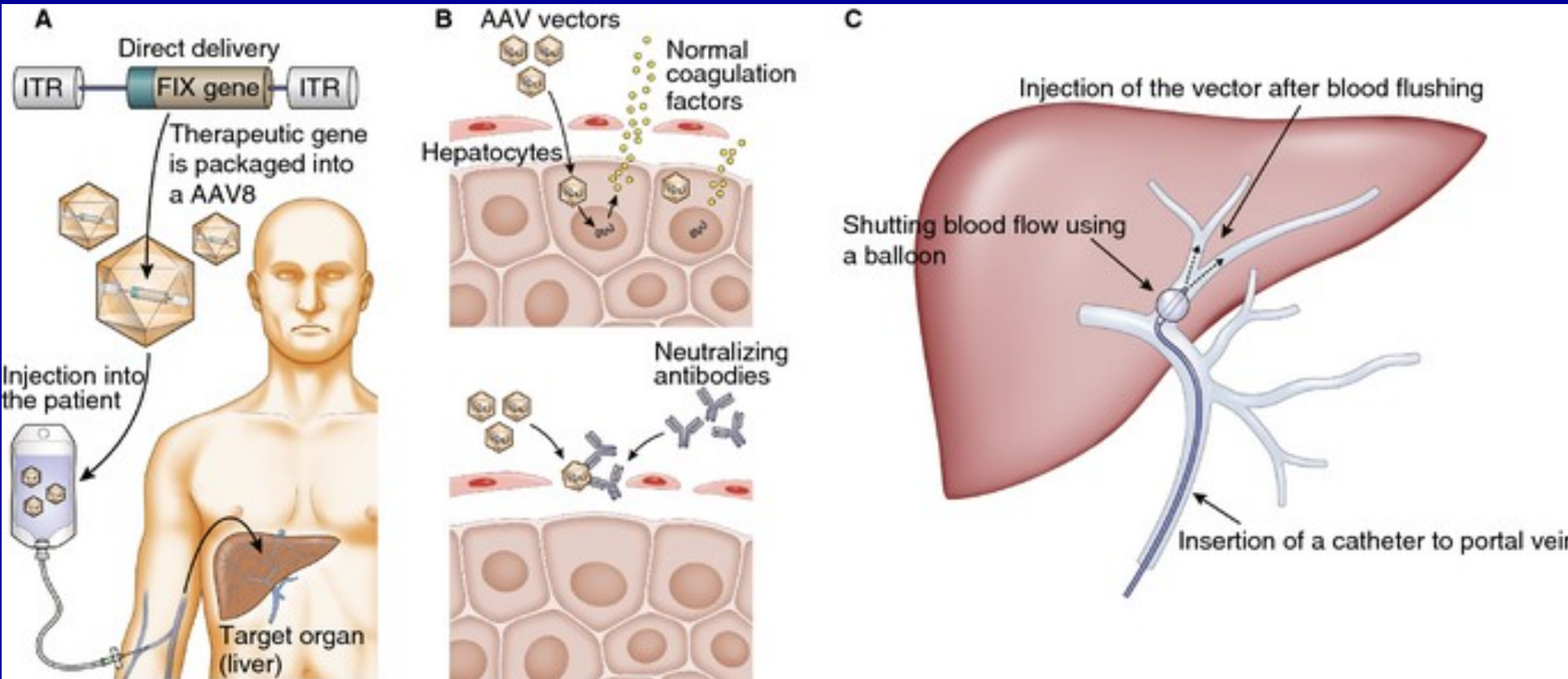
## Obnovení syntézy FVIII/FIX přenosem jeho genu:

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

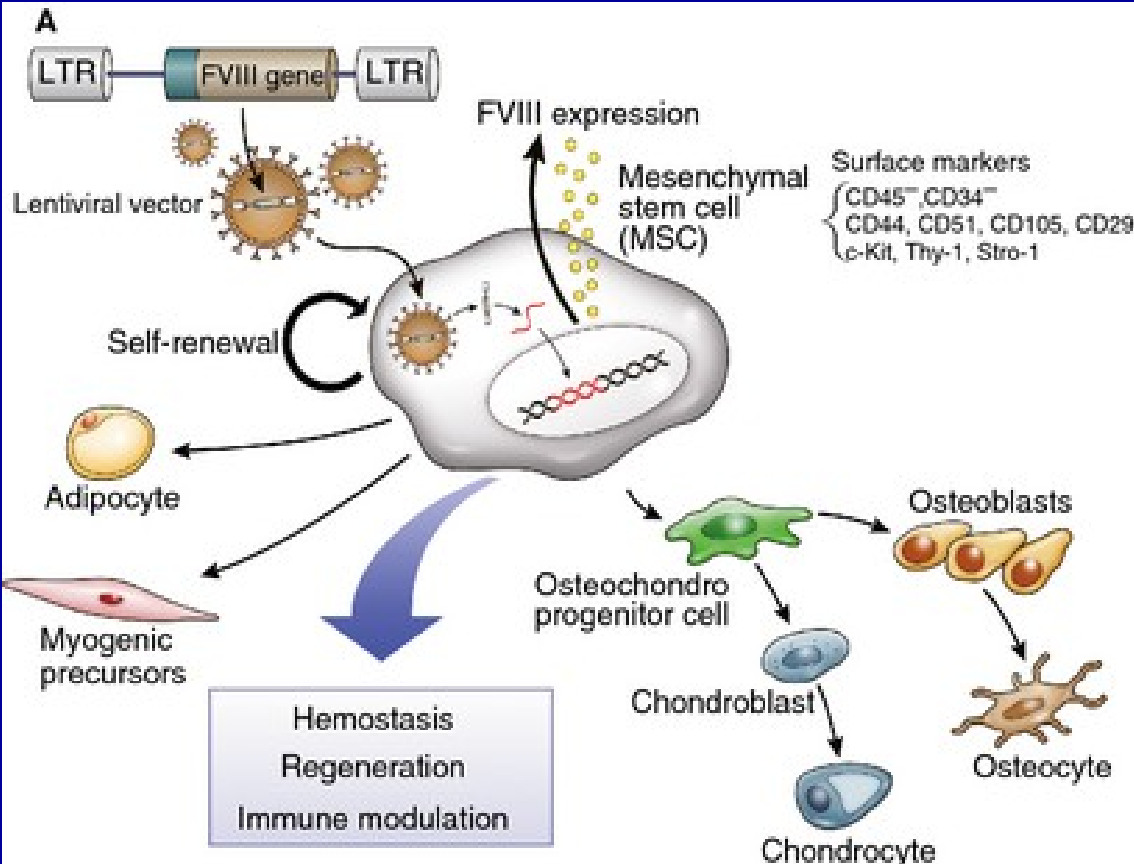
## Vektory:

- **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:
  - $2 \times 10^{11}$  vg/kg -  $2 \times 10^{12}$  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

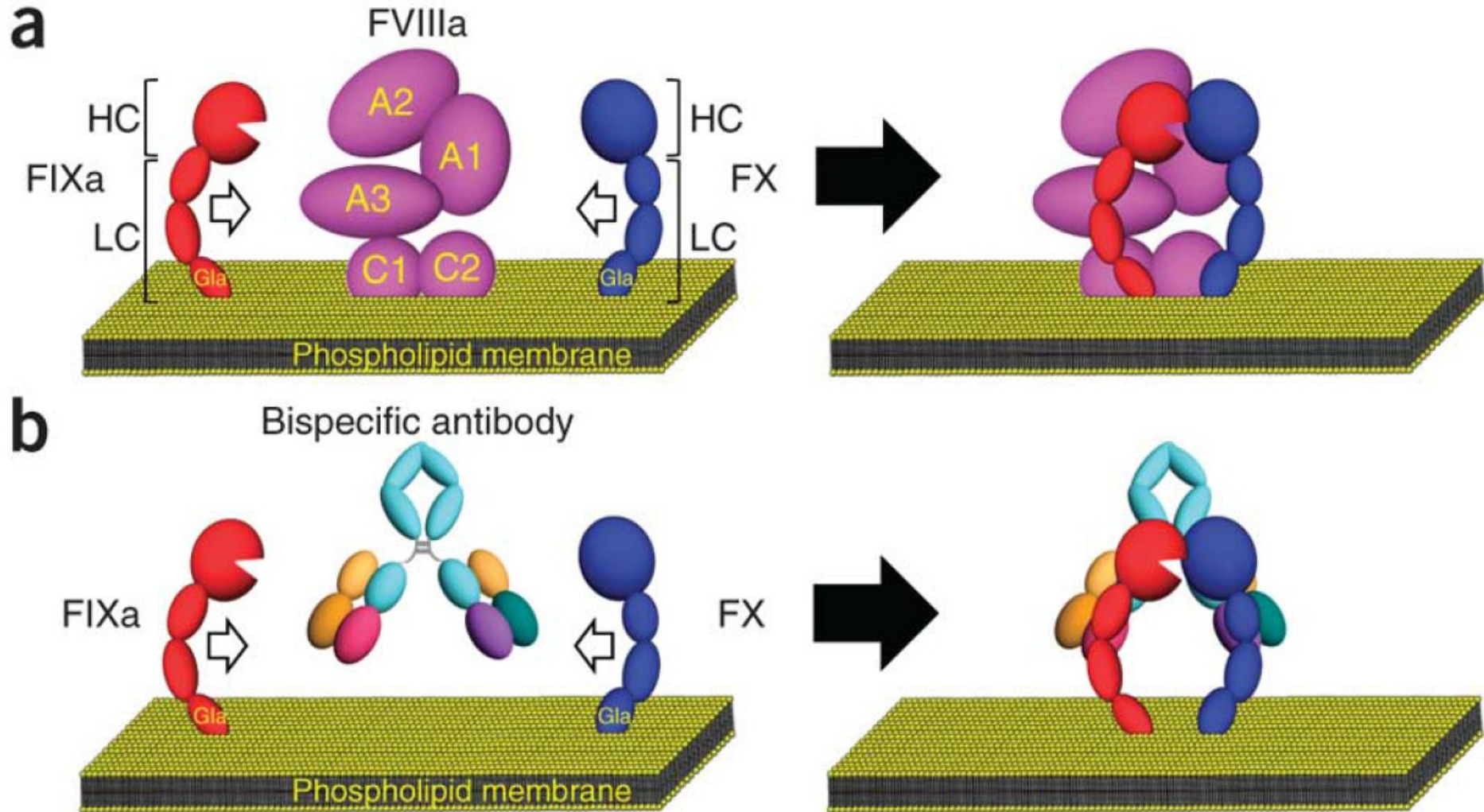
*\*Dolan G. Eur J Haematol. 2017;99(Suppl.87): 3-9*

*\*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:  $6 \times 10^{13}$  vg/kg: po 1 roce FVIII v normě
  - 6:  $4 \times 10^{13}$  vg/kg: po 1 roce FVIII v normě 3x, 3x > 5 %
  - 3:  $6 \times 10^{12}$  vg/kg a  $2 \times 10^{13}$  vg/kg: bez efektu
- Lentivirus
  - možnost přenosu i většího genu

# Bispecific antibody simulating function FVIII (ACE910, emicizumab)



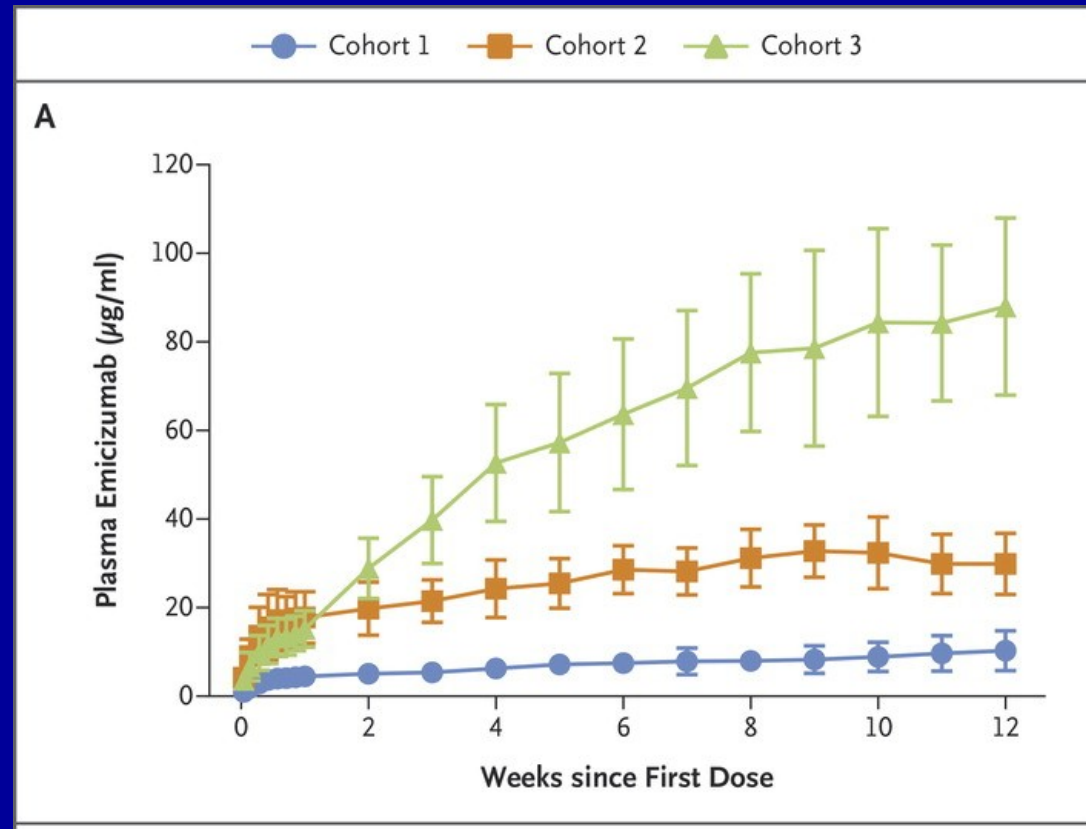
# Emicizumab – volba dávky a cílová hladina

- Dávkování 1x týdně s.c.:

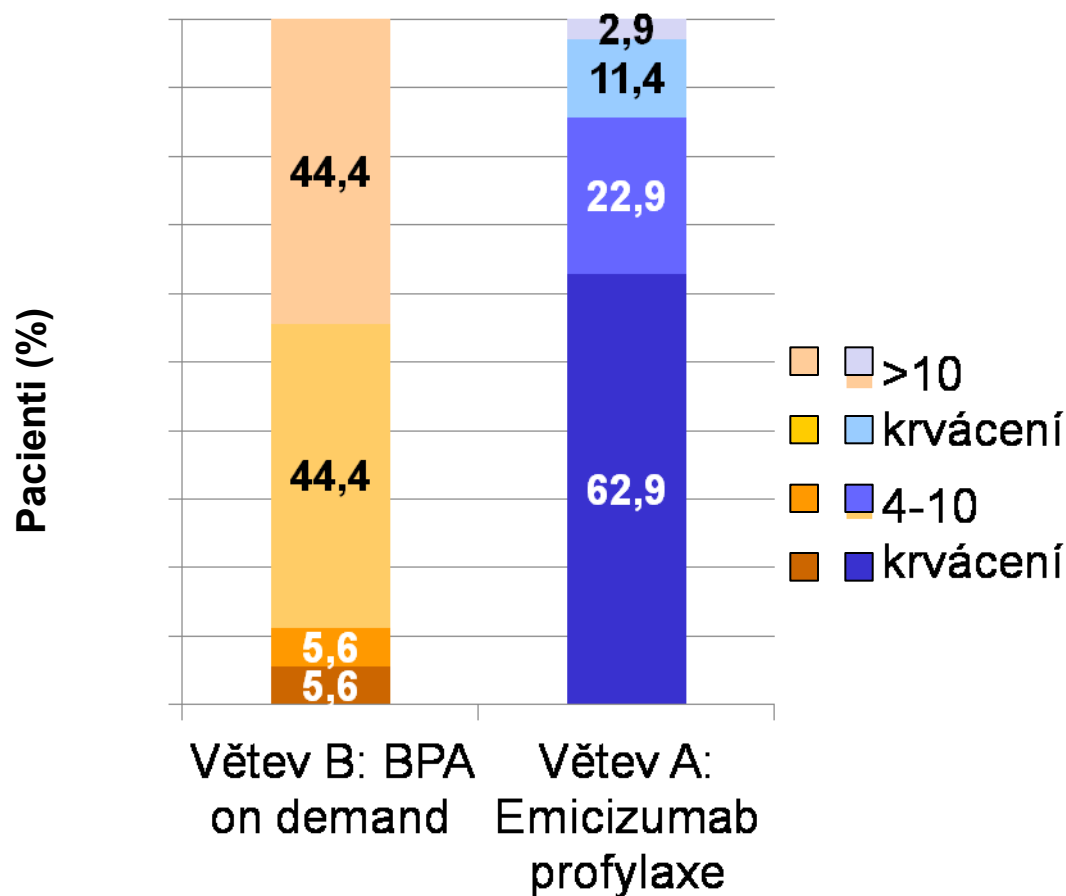
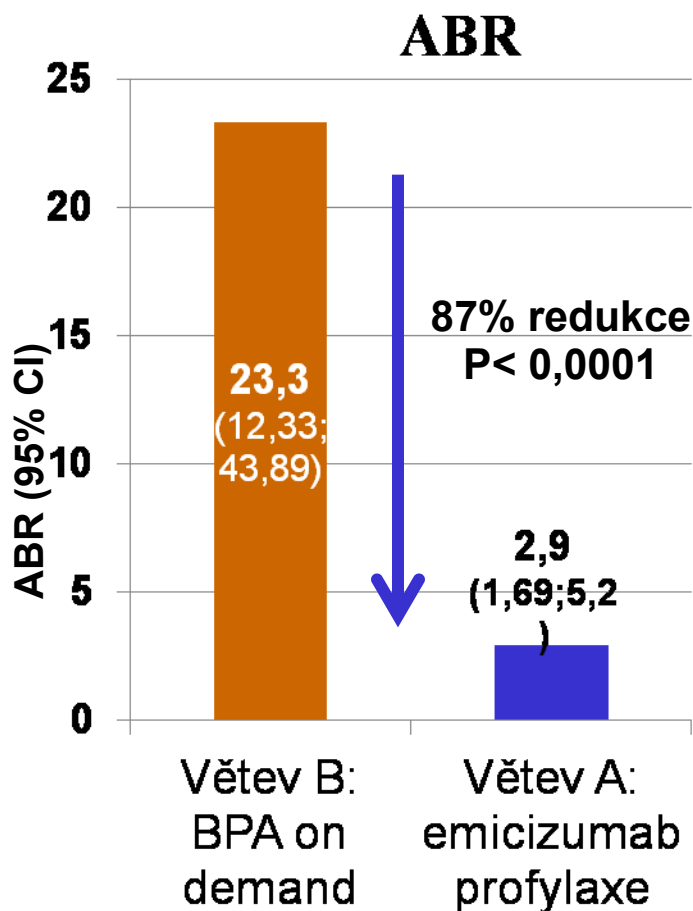
- Skupina 1: 0,3 mg/kg ■
- Skupina 2: 1 mg/kg ■
- Skupina 3: 3 mg/kg ■

- „Trough level“ 12. týden:

- 10  $\mu\text{g}$  ~ 3 % FVIII ■
- 30  $\mu\text{g}$  ~ 9 % FVIII ■
- 90  $\mu\text{g}$  ~ 27 % FVIII ■
  
- 30-50  $\mu\text{g}$  ~ 10-15% FVIII



# Počet krvácení ročně (ABR) větev A vs větev B



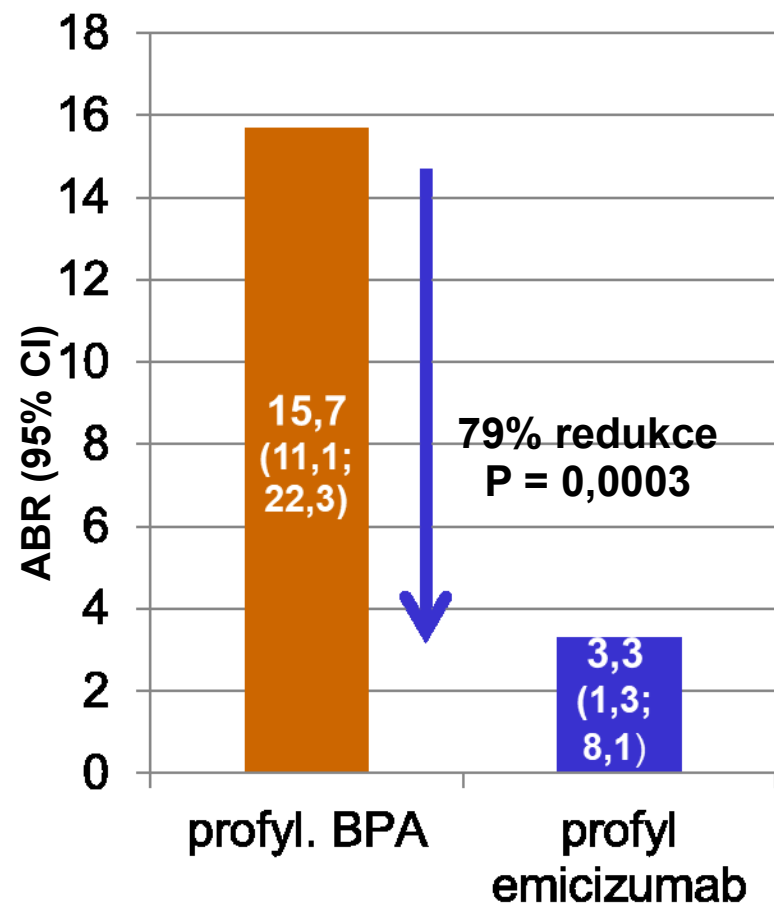
Median: 18,8      0

\*Oldenburg J et al. ISTH, 2017

# Intraindividuální porovnání

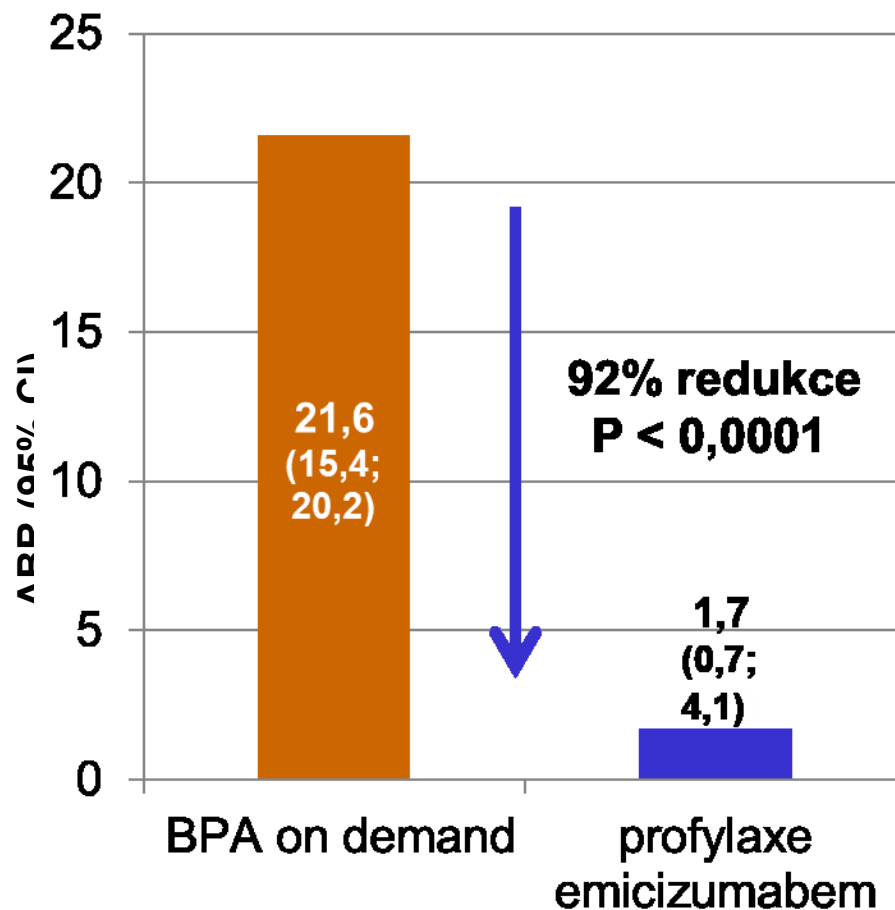
## Větev C:

### 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

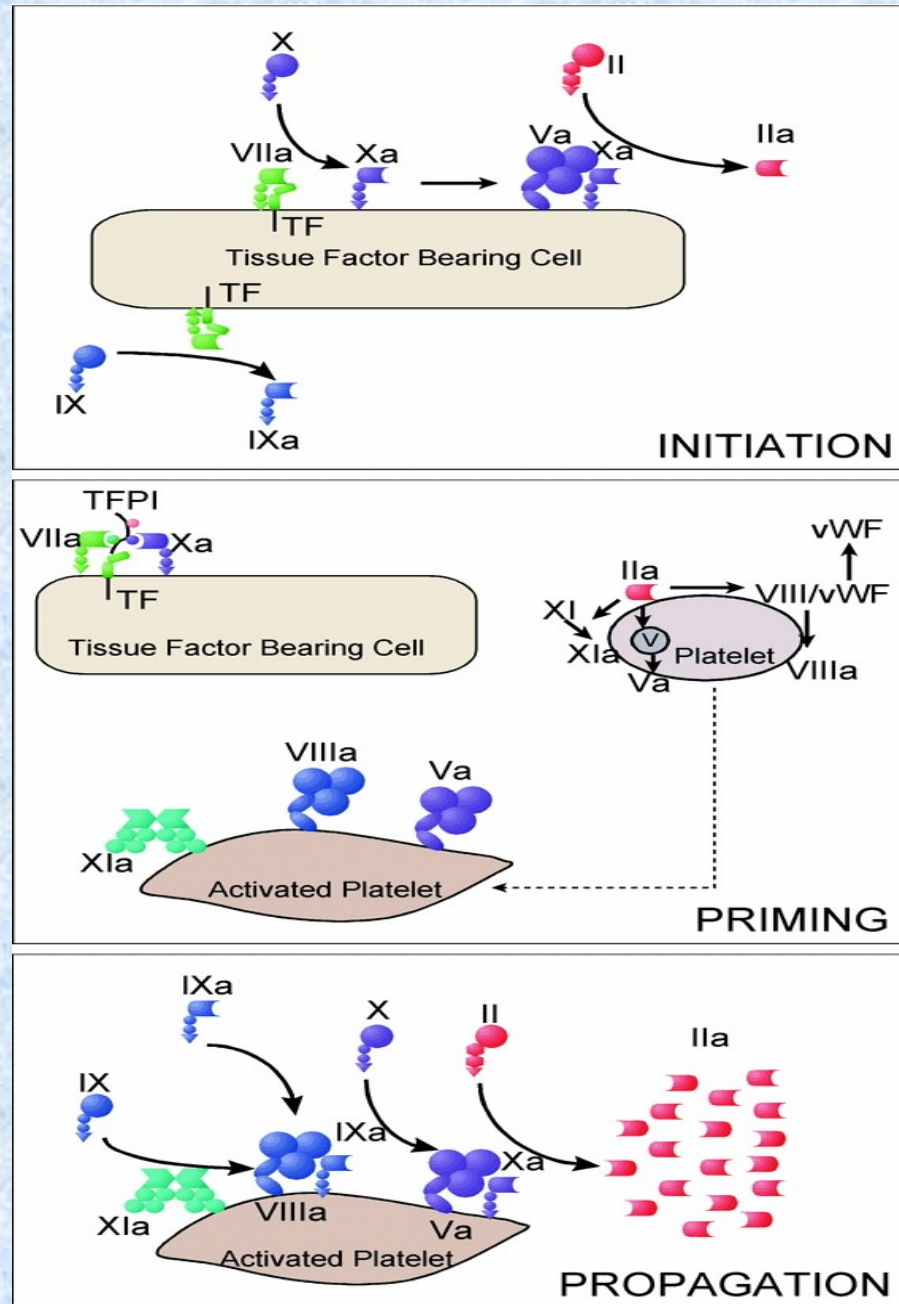
responder	"Low"	"High"
<ul style="list-style-type: none"><li>• odpověď na podání FVIII</li></ul>	žádná / pomalý vzestup titru	vzestup titru
<ul style="list-style-type: none"><li>• titr inhibitoru</li></ul>	< 5 B.U./ml	> 5 B.U./ml
<ul style="list-style-type: none"><li>• výskyt</li></ul>	cca 1/3	cca 2/3



# 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,  $\alpha$ 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

↑  $\alpha$ 1AT, PAI, tPA,  $\alpha$ 2MG, Plg

## Vliv fyz. i psych. stresu:

↑ Fbg, FVII, FVIII, vWF

↑ tPA

↓  $\alpha$ 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:RC <sub>0</sub> < 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 <sub>2</sub> 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 $\alpha$  Arg 16 His)
- **Krvácení** 25% (A $\alpha$  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 $\alpha$
- 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