

MUNI  
MED

# PATOFYZIOLOGIE KREVNÍHO SRÁŽENÍ

Mgr. Lucie Štrublová  
Ústav patologické fyziologie  
15.4.2024



- Co si představíte pod pojmem "Poruchy krevního srážení"?
- Jaké znáte nejčastější poruchy krevního srážení?
- Jaké mohou být jejich projevy?
- Proč by měl/a mít nutriční terapeut/ka povědomí o této problematice?

# OSNOVA

- Základní pojmy
- Primární hemostáza
- Sekundární hemostáza

# ZÁKLADNÍ POJMY



# 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

# Krvácivé stavy

- Stavy zvyšující riziko úniku krve z cévního systému
  - Zvýšená fragilita cévní stěny
  - Snížená schopnost krve zacelovat místa narušení cévního systému
- Zástavy krvácení a udržování tekutosti krve se účastní cévní endotel, subendotelové struktury, hl. svalstvo cévní stěny, trombocyty, koagulační faktory (aktivátory+inhibitory) a krevní proud jako aktivní účastník těchto dějů

# Endotelie

- Několik mechanismů zamezujících srážení krve
- Zvyšují cévní průsvit prostřednictvím NO a prostaglandinu I<sub>2</sub> – inhibující účinek na trombocyty.
- Exprimují trombomodulinu a heparinu podobné látky
- Zdrojem tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA)
- Po vystavení endotoxinu a cytokinu TNF exprimují v membráně tkáňový faktor

# Neaktivované trombocyty

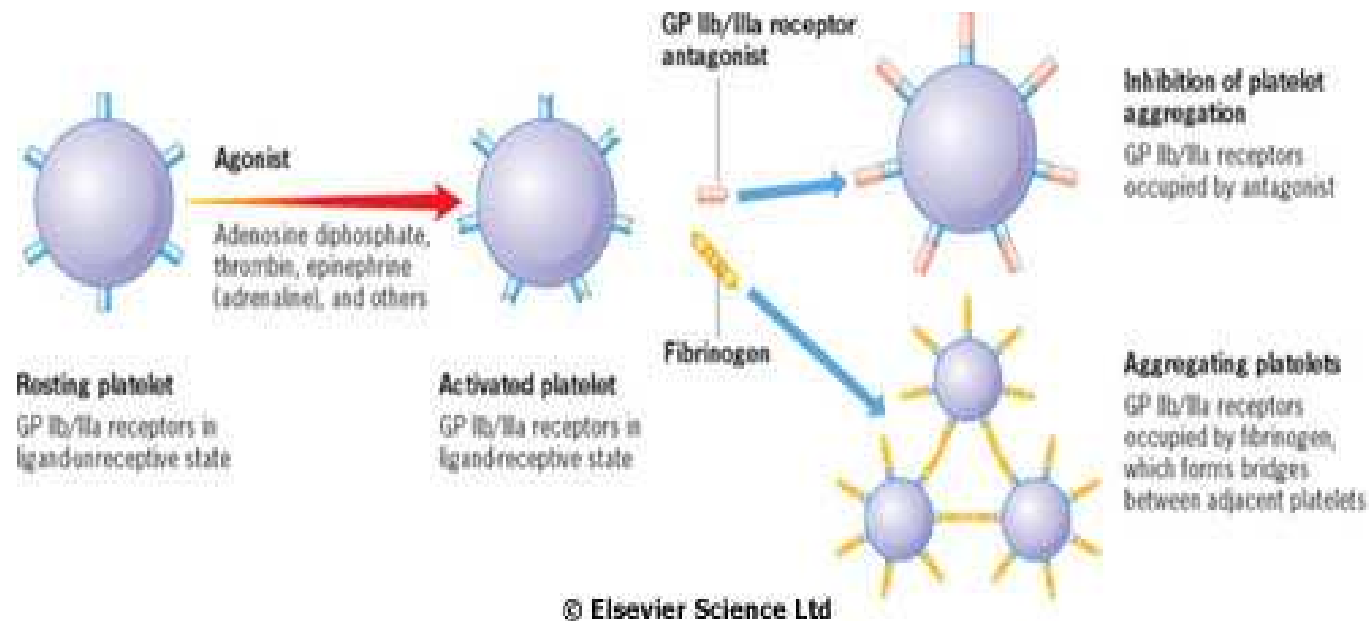
- Běžně přítomny v krvi
- Receptor pro kolagen, fibronektin, von Willebrandův faktor, vitronektin, laminin, trombin, ADP, tromboxan A2 a jiné další molekuly



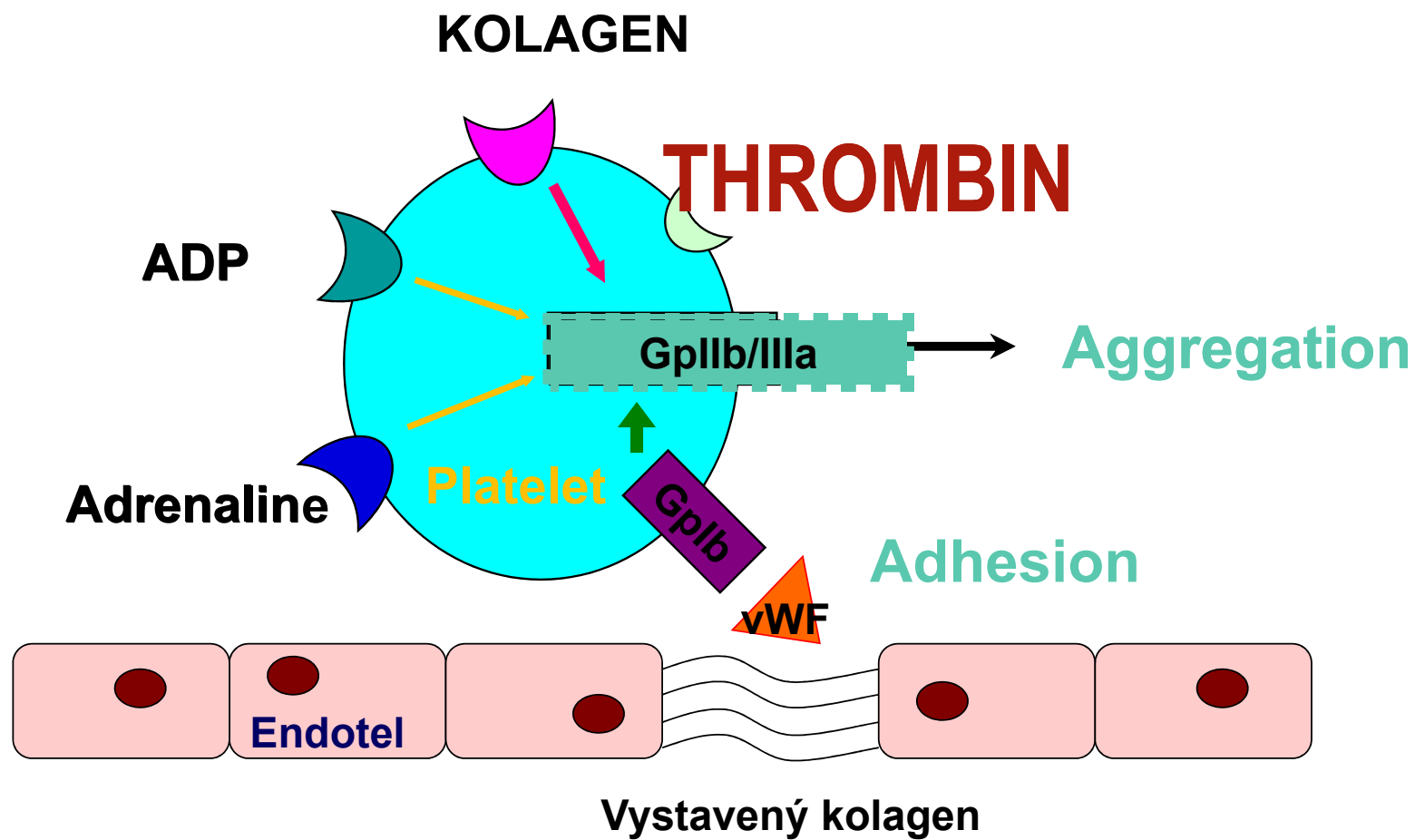
# Aktivované trombocyty

- Aktivace trombocytů po vazbě na kolagen, fibronektin, lamin a von Willebrandův faktor působení trombinu (koagulačního faktoru IIa) za účasti  $\text{Ca}^{2+}$ , adrenalinu a ADP
- Uvolnění účinných látek z granul trombocytů do okolí
- Aktivované trombocyty zvýšeně exprimují receptory pro fibrinogen **glykoproteiny IIb – IIIa**
- Prostřednictvím receptoru pro plazmatický a destičkový fibrinogen se trombocyty váží navzájem = agregace trombocytů

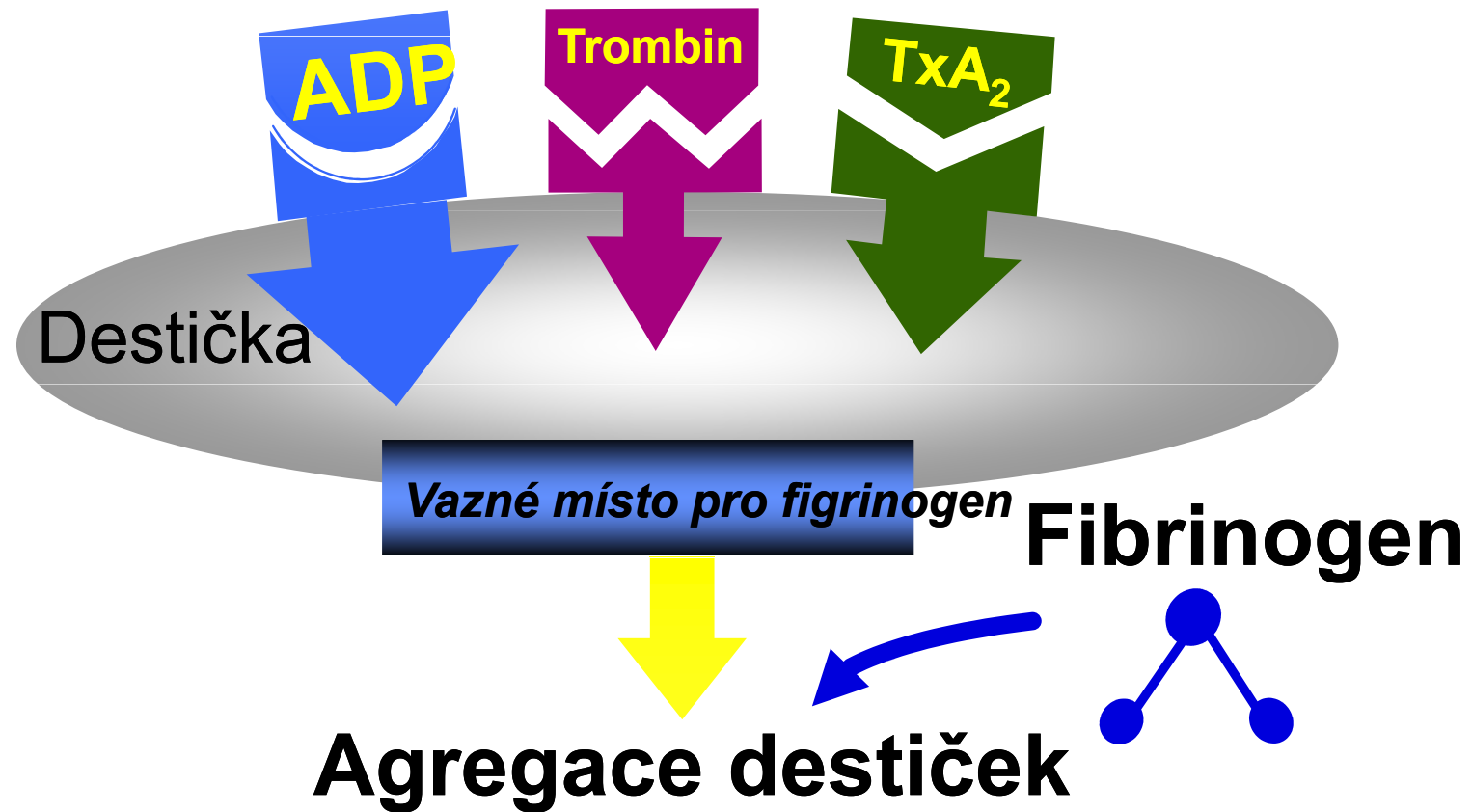
# Role glykoproteinů IIb/IIIa v destičkové agregaci a inhibice destičkové agregace inhibitory receptorů pro glykoproteiny IIb/IIIa



# Cesta aktivace destiček (1)



# Cesta aktivace destiček (2)



# Koagulační faktory

- Přítomny v krevní plazmě v neaktivní formě tzv. zymogenů (proenzymů)
- Potenciální proteázy, vznikají specifickým proteolytickým štěpením zymogenů; štěpení provádějí aktivované formy jiných koagulačních faktorů
- Cílovým proteolytickým enzymem v této kaskádě je trombin-factor IIa
- koagulace vyústí tvorbou fibrinové sítě a její následnou fibrinolýzu
- Fyziologický průběh zástavy krvácení zahrnuje dva děje: **primární** a **sekundární hemostázu**

# 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)

# 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

# PRIMÁRNÍ HEMOSTÁZA





# Primární hemostáza

- Neúčastní se zde plazmatické koagulační faktory
- Významným činitelem jsou trombocyty
- Poruchy primární hemostázy se rozvíjí při
  - ↓ počtu trombocytů v krvi
  - trombocytopenii
  - trombocytopatii
- Klinické projevy
  - Tvorba petechií, purpura, epistaxe, krvácení z dásní, krvácení do GIT, hematurie, menoragie
- Komprese místa krvácení je účinným prostředkem jeho zástavy

# 1. Poruchy cévní stěny – vaskulopatie

## A) VROZENÉ PORUCHY

- Hereditární hemoragická teleangiektázie
  - Autosomálně dominantní onemocnění, zeslabená a drobná cévní stěna ve které je rozšířená céva
  - Výskyt kůže obličeje (viditelná forma), různé orgány např. plíce
- Ehlersův-Donlosův syndrom a Marfanův syndrom
  - Onemocnění pojivové tkáně
  - Projevy: hypermobilita kloubů, postižení pojiva a ↓ odolnost kůže, ↑ pohyblivost cév v dermis



# 1. Poruchy cévní stěny – vaskulopatie II

## B) ZÍSKANÉ PORUCHY

- Souvislost s poruchami pojivové tkáně
  - Senilní purpura - ↑ fragilita cév u lidí staršího věku, poškození drobných cév následkem atrofie podkožní tkáně (úbytek elastických vláken)



# 2. Trombocytopenie a trombocytopatie

## A) TROMBOCYTOPENIE

- Riziko nadměrného krvácení při poklesu trombocytů pod 20 000 μl a mimořádně vysoké riziko při poklesu pod 5 000 μl
- Provázena ↑ hladiny trombopoetinu (TPO) v plazmě → nepřímý vztah k počtu trombocytů v cirkulaci
- Nebyly zatím popsány patologické stavy způsobené nedostatečnou tvorbou TPO
- Jaterní tkáň, ledviny, slezina a kostní dřeň jako hlavní zdroj TPO
- TPO velmi účinný růstový faktor při léčbě některých polékových trombocytopenií

# A) Trombocytopenie- příčiny

- Vrozené (vzácné) vs získané
- Důsledek nedostatečné tvorby trombocytů v krvetvorné tkáni nebo jejich zvýšená spotřeba
- ↓ produkce trombocytů
  - Aplastická anémie, myelodyplastický syndrom, myelofibróza, myelofitiza,
  - trombocytopenie s chybením os radii (vrozená) – vyznačuje se nízkým nebo chybějícím počtem megakaryocytů v kostní dřeni
- ↑ destrukce nebo konzumpce trombocytů
  - Autoprotilátky proti trombocytům, diseminovaná intravaskulární koagulace, trombotická trombocytopenická purpura, umělé srdeční chlopně
- Sekvestrace trombocytů ve slezině
  - Hypersplenismus při splenomegalii

## B) Trombocytopenie

- Defektní funkce trombocytů z důvodu jejich vnitřní poruchy
- Možná příčina poruch primární hemostázy i při dostatečném počtu trombocytů
- Vrozené vs. získané

## B) Trombocytopenie II

### VROZENÉ PORUCHY NARUŠUJÍCÍ ADHEZIVITU A AGREGACI TROMBŮ

Trombocyty mají dva funkčně významné glykoproteinové komplexy gpIb-IX a gpIIb-IIIa, které plní funkci receptorů – realizace procesů adheze a agregace trombocytů

Těmito komplexy se váží k subendoteliálním strukturám (kolagen I a II) prostřednictvím vWF a dále k fibrinogenu secernovanému z plazmy a trombocytů

## B) Trombocytopatie III

- Bernardův-Soulierův syndrom
  - Autosomálně recesivní dědičnost, defekt komplexu gplb-IX
- Glanzmannova trombastenie
  - Autosomálně recesivní dědičnost, defekt komplexu gpIIb-IIIa
- Obě poruchy způsobují klinicky závažnou poruchu primární hemostázy
- Von Willebrandova nemoc
  - Onemocnění má příznaky poruchy primární i sekundární hemostázy
  - **Společně s hemofilií A a B nejčastějším vrozeným defektem hemostázy**
  - Narušení adheze trombocytů vlivem ↓ hladiny vWF v plazmě
  - vWF také plazmatickým nosičem koagulačního faktoru VIII – tím se stává faktor nestabilní a jeho hladina v plazmě je snížena
  - Získaná forma nemoci – protilátky proti vWF



# Von Willebrandův faktor

- Vytvářen endoteliemi a megakaryocyty
- Několik molekulárních forem
- Běžně přítomen v krevní plazmě, granulech trombocytů a subendoteliálně
- Již mírné snížení koncentrace vWF v plazmě nebo chybění vysokomolekulárních forem vede k poruše adheze trombocytů
- Klinické příznaky: epistaxe, krvácení do GIT a urogenitálního traktu, ↑ krvácení po úrazech a operacích

## Vrozené poruchy trombocytů narušující jejich skladovací a sekreční funkci

- Defekt funkce granul trombocytů
- Heřmanského-Pudlákův syndrom
  - Okulokutánní albinismus a pigmentová granulace v makrofázích kostní dřeně
- Chédiakův-Higashiho syndrom

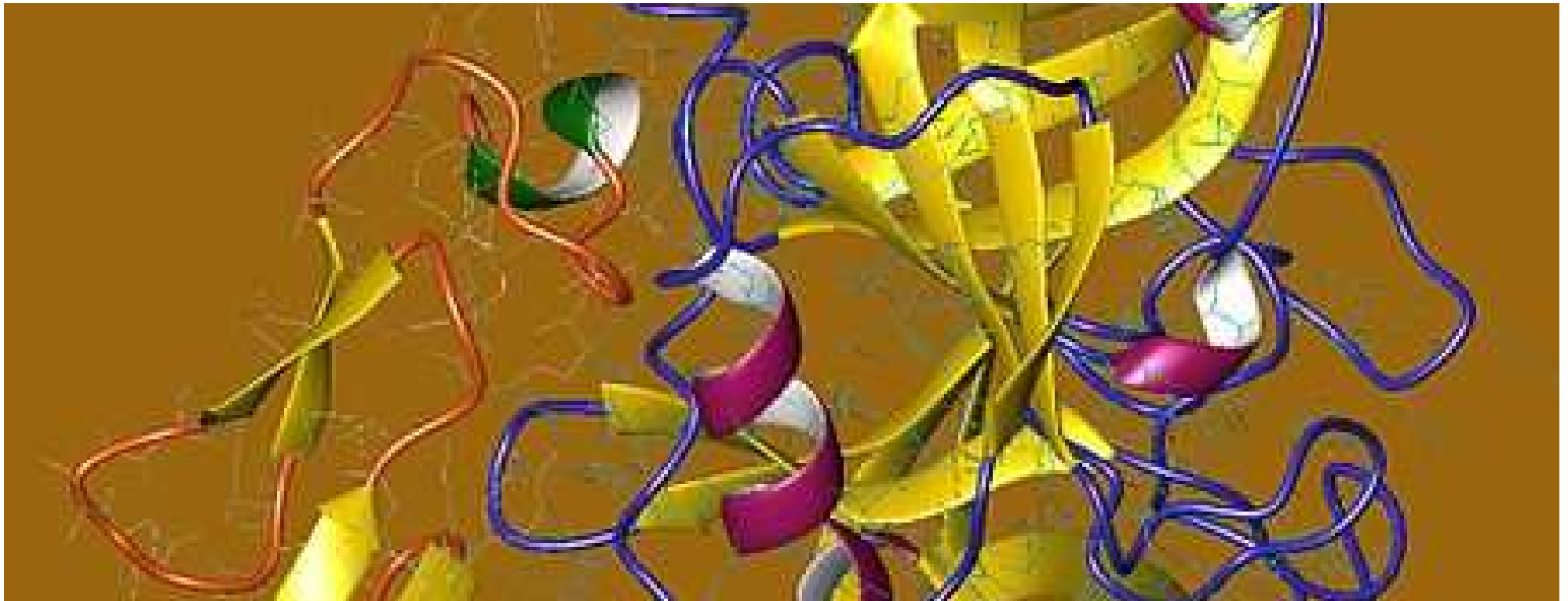


Chediak-Higashi Syndrome (albinism)

# Získané poruchy trombocytů

- Kys. acetylsalicylová („aspirin“) a jiné nesteroidní protizánětlivé léky ireverzibilně acetylují cyklooxygenázu trombocytů v krvi
- Jedna dávka těchto látek částečně ↓ schopnost krve zacelit drobná krvácení mechanismem primární hemostázy
- Jiné příčiny: porucha trombocytů při selhání fcí ledvin

# PORUCHY SEKUNDÁRNÍ HEMOSTÁZY



# Poruchy sekundární hemostázy

- Podstatou sekundární hemostázy je koagulace krevní plazmy končící vytvořením sítě fibrinu
- Zdrojem plazmatických koagulačních faktorů je jaterní proteosyntéza
- Koagulopatie postihující proces srážení krve
- Shodné příznaky u vrozené i získané
- Příznaky podobné jako u poruch primární hemostázy
  - Epistaxe, krvácení do GIT, hematurie, menoragie
  - **Chybí petechie a purpury**
- Rozsáhlá opakující se krvácení do tkání, tvorba velkých hematomů
  - kůže, sliznice, klouby, svaly, mozek, retroperitoneum
- Zhoršené hojení ran, komprese rány není účinným prostředkem k zástavě

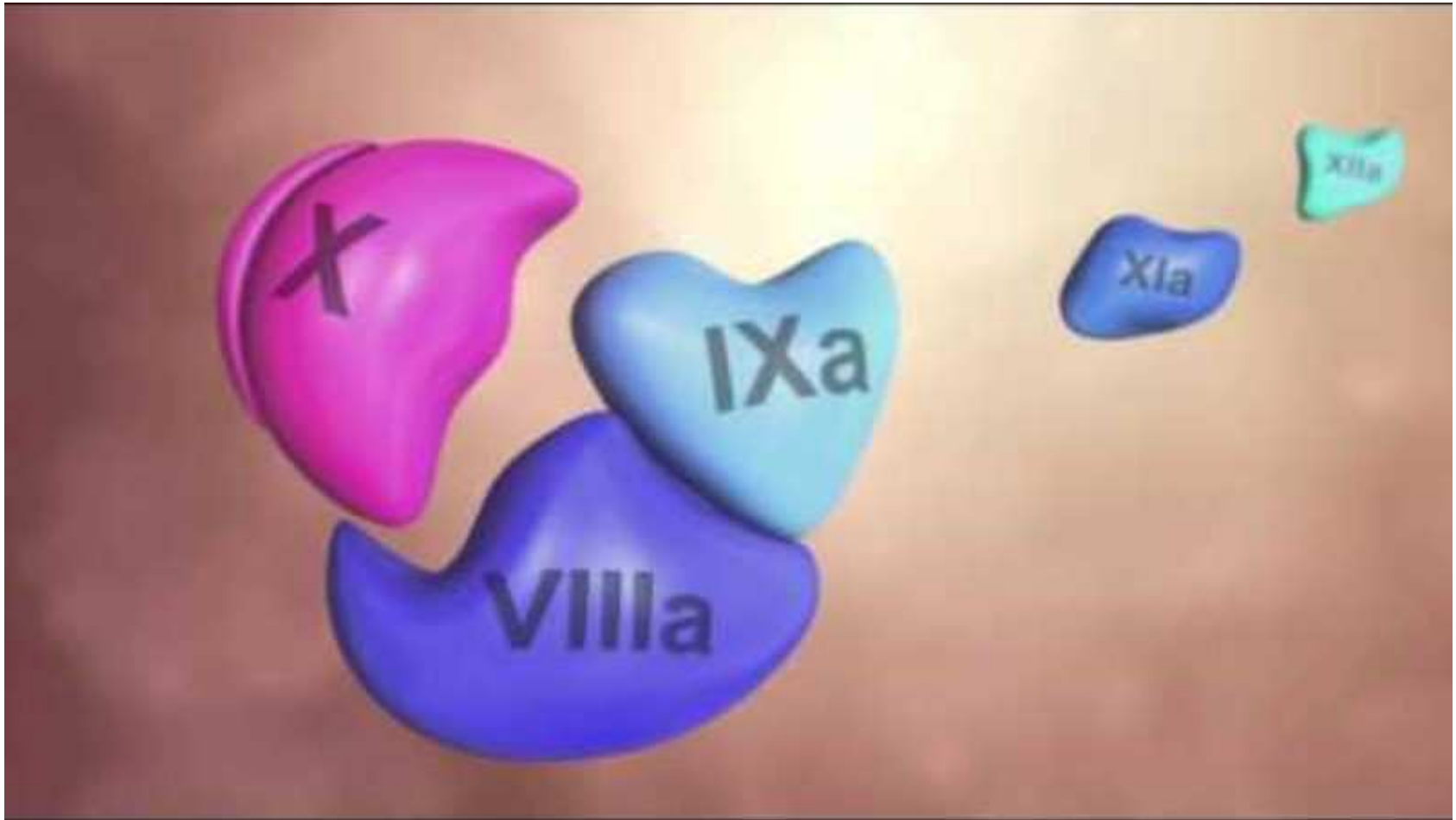
krvácení

# Koagulace krve in vivo

- Proniknutí krve do subendotelových a extravaskulárních prostor způsobí navázání plazmatického koagulačního faktoru VII na tkáňový faktor
- Po navázání na tkáňový faktor se faktor VII stává citlivý k proteolytické aktivaci koagulačních faktorů normálně přítomných v plazmě Xa60 a VIIa
- Faktor VIIa dále aktivuje faktory IX a X → aktivace protrombinu (faktoru II) na **trombin** (faktor IIa)
- Trombin dále aktivuje akcelerační faktor V (proakcelerin) a VII (antihemofilický globulin), které se mění na Va a VIIa, a aktivuje faktor IX čímž zesiluje svoji tvorbu
- Aktivace faktoru IX mnohonásobně zesílí tvorbu Xa
- Koagulace zahájená VII+tkáň.faktorem nyní závislá na faktorech VIIIa a IXa, faktor VIIa již inhibován TFPI (inhibitor cesty tkáňového faktoru)

# Koagulace krve in vitro

- Kontakt krve s aktivačním povrchem zahajuje srážení krve aktivací XII. faktoru za účasti vysokomolekulárního kininogenu (současně aktivace prekalikreinu a kalikreinu)
- Faktor XIIIa aktivuje faktor XI → vzniká faktor Xa
- Význam aktivace faktoru XII spočívá hlavně v tvorbě kalikreinu a dalších kininů (např. bradykinin) v aktivaci komplementu a v aktivaci plazminogenu na plazmin (působí fibrinolýzu)





# 1. Vrozené poruchy koagulace

- Většinou recesivně dědičná onemocnění vážící se na chromosom X
- Postižen bývá jen jeden koagulační faktor
- Závažnost postižení se může individuálně lišit
- Nejčastějšími vrozenými poruchami koagulace jsou důsledky mutací postihující geny pro koagulační faktory VII a IX, von Willebrandův faktor a pro faktor V

# A. Nedostatek faktoru VIII – hemofilie A

- Zdroj faktoru VIII jsou játra, granula trombocytu (zde secernován po aktivaci)
- Faktor je vytvářen hepatocyty a v plazmě se vyskytuje s vWF, po aktivaci zesiluje vznik faktoru Xa působením faktoru IXa.
- Příčinou nedostatku faktoru VIII může být přítomnost specifických protilátek (neutralizační protilátky IgG)
- Hladina VIII. faktoru v plazmě do 25 % nepůsobí koagulační poruchy
- Pokles hladiny na 25-5% působí jen velmi mírné projevy
- Snížení hladiny pod 1 % způsobí závažnou koagulační poruchu odpovídající onemocněním hemofilií A

## B. Nedostatek faktoru IX – hemofilie B

- Hemofilie B vykazuje stejný charakter dědičnosti, ale má 3x méně častý výskyt než hemofilie A
- Gen pro koagulační faktor IX taktéž přítomen na dlouhém raménku chromozomu X
- Závažnost poruchy odráží stupeň snížení hladiny faktoru IX v plazmě
- Klinické projevy stejné jako u typu A, krvácení však nereaguje na podání faktoru VIII

## C. Nedostatek faktoru XI – hemofilie C

- Autosomálně recesivní dědičnost
- Defekt faktoru XI častěji přítomen u aškenázských Židů
- Faktor XI je součástí málo významné koagulační cesty začínající aktivací faktoru XII
- Klinické projevy: zesílené krvácení po operacích, menoragie

## D. Nedostatek faktorů II, V, VII, X, XII a XIII

- Převážně autosomálně recesivní typ dědičnosti
- Klinické projevy spojeny s velkým krvácením
- Defekty XII se neprojevují krvácivým stavem, pouze laboratorní vyšetření aPTT je významně pozitivní
- Faktor XIII (fibrin-stabilizující faktor) – enzym zpevňující fibrinovou strukturu – větší odolnost vůči fibrinolýze
- Projevem nedostatku XIII faktoru je opožděné krvácení (po 24-48 hod), vzniká nestabilní sraženina urychleně rozpuštěna fibrinolytickým procesem s následným obnovením krvácení

# F. Afibrinogenémie a dysfibrinogenémie

## Afibrinogenémie

- nepřítomnost fibrinogenu v plazmě, závažné krvácivé projevy

## Dysfibrinogenémie

- výsledek různých mutací genů, které mění vlastnosti fibrinogenu a mají za následek sníženou srážlivost krve
- většinou heterozygoti – žádné nebo velmi mírné klinické projevy
- některé mutace působí zvýšenou tendenci ke konverzi fibrinogenu na fibrin → zvýšené riziko vzniku trombóz

## 2. Získané poruchy koagulace

- Postiženo více koagulačních faktorů současně pokud není příčinou nedostatku tvorba specifických neutralizačních protilátek
- Nejčastější příčiny:
  - Porušená funkce jater (insuficience nebo selhání)
  - Nedostatek vitamínu K – onemocnění GIT ↓ vstřebávání tuků
  - Iatrogení příčiny – terapeutické podávání antikoagulancií pro snížení srážlivosti krve (warfarin, heparinové preparáty)
  - Diseminovaná intravaskulární koagulace

# A. Jaterní insuficience a selhání

- Jaterní tkáň je zdrojem šesti koagulačních faktorů tzv. protrombinového komplexu: faktor II, VII, IX, X, proteinu C a proteinu S
- Vyznačují se  $\gamma$ -karboxylací některých zbytků kys. glutamové závislou na epoxidu vit. K; játra jako místo skladování a metabolické aktivace vit.K
- Další faktory vytvářeny v játrech: fibrinogen (faktor I), V, XI, XII, XIII
- Onemocnění jater provázeno splenomegálií a hypersplenismem nepřímo způsobí trombocytopenii, bývá aktivována fibrinolýza → zhoršení krvácivých stavů
- Poškození jater a ztráta jaterního parenchymu zvyšuje riziko DIC



## **B. Nedostatek vitamínu K a porucha $\gamma$ -karboxylace zbytků kys.glutamové faktorů II, VII, IX a X.**

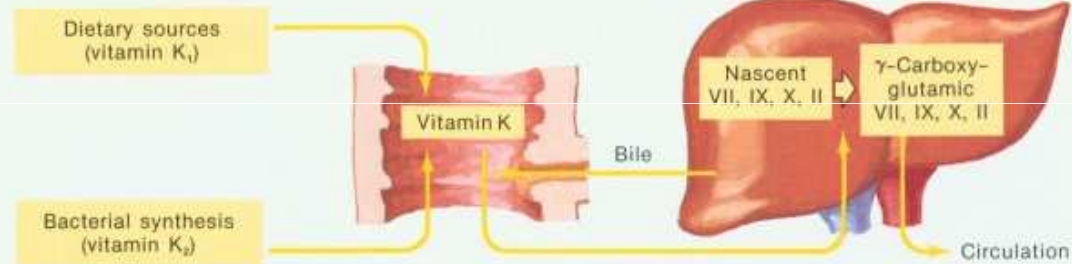
- Resorpce vit. K s tuky v tenkém střevě, tvorba střevními bakteriemi
- Porucha sekundární hemostázy při akutním nedostatku příjmu vit. K za 7-10 dnů
- Při nedostatku vit. K se v játrech vytváří neúčinné formy proteinů protrombinového komplexu jenž nemají schopnost adherence k fosfolipidovým povrchům
- Warfarin a cefalosporinová atb inhibují redukci a recyklaci vit.K

## **B. Nedostatek vitamínu K a porucha $\gamma$ -karboxylace zbytků kys.glutamové faktorů II, VII, IX a X.**

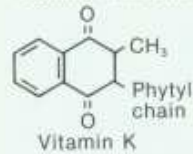
- Krvácení u hospitalizovaných pacientů s umělou výživou a antibiotiky
- Novorozenci, zvláště nezralí, s nedostatečnou funkcí jater
- Abnormality absorpce tuků
- Deficity žlučových kyselin

## Synthesis of Vitamin K-Dependent Coagulation Factors

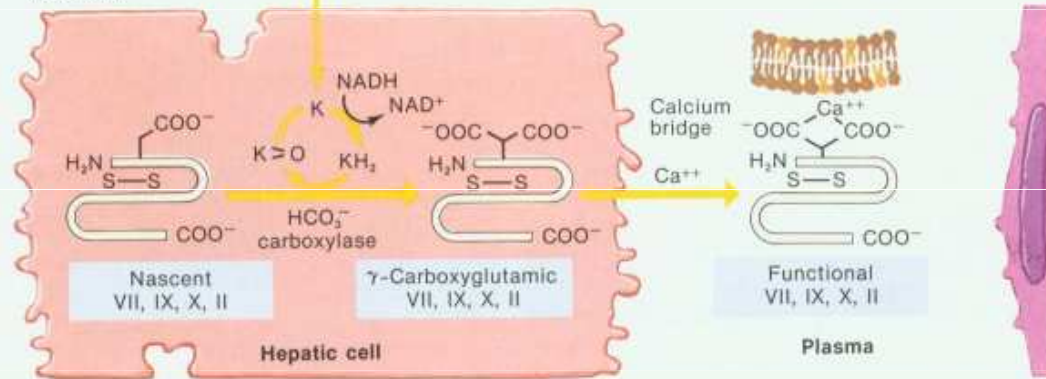
### Vitamin K absorption and metabolism



### 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



# Antikoagulační terapie - Warfarin

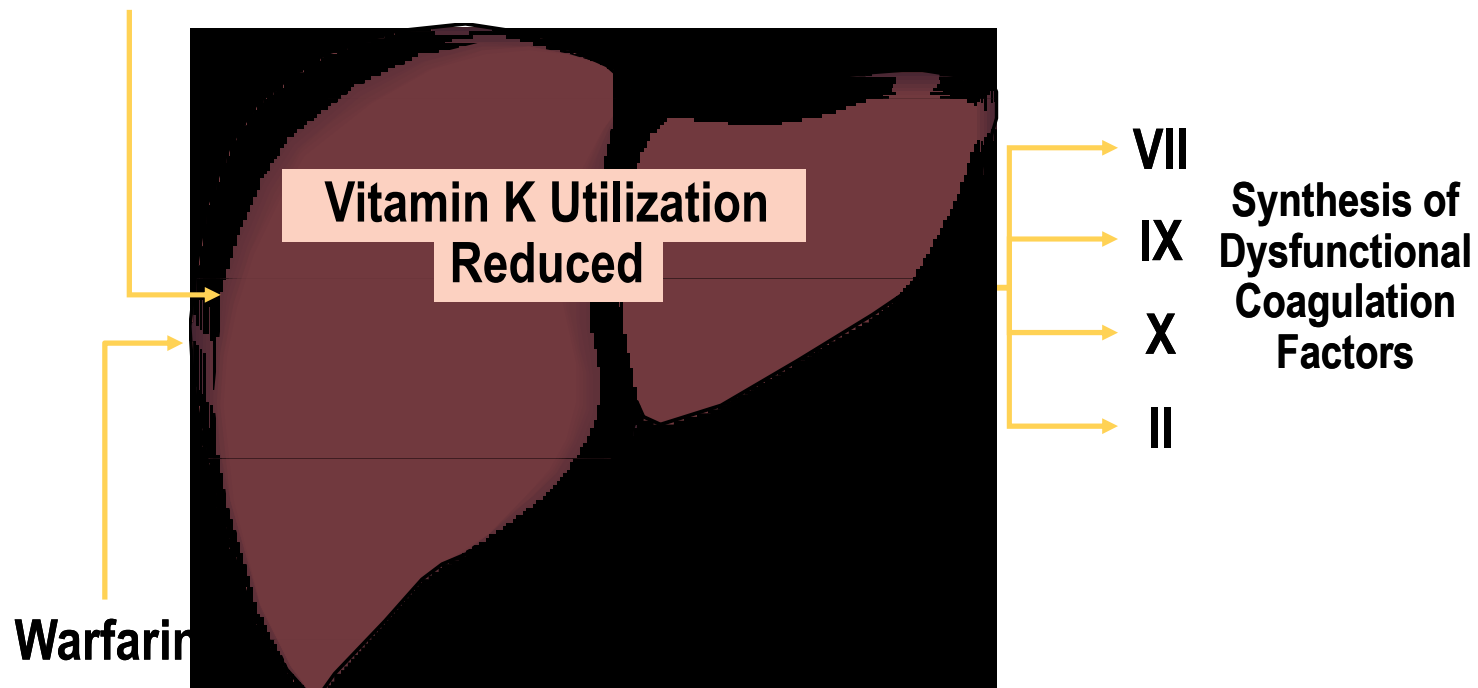
- Warfarin
  - potlačuje tvorbu faktorů srážení krve, ↓ riziko vzniku krevních sraženin
  - Blokuje účinky vit K v organismu
- Vitamin K
  - Důležitý pro tvorbu koagulačních faktorů interakce s antikoagulační terapií
  - Principem antikoagulační diety je udržení adekvátního příjmu vitamínu K do 250 µg
  - Potraviny bohaté na vitamin K: listová zelenina, kysaná listová zelenina

# 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

# Warfarin—Mechanismus účinku

Vitamin K



Warfarin

## C. Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)

- Spuštěná koagulace a následné vyčerpání koagulačních faktorů
- 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

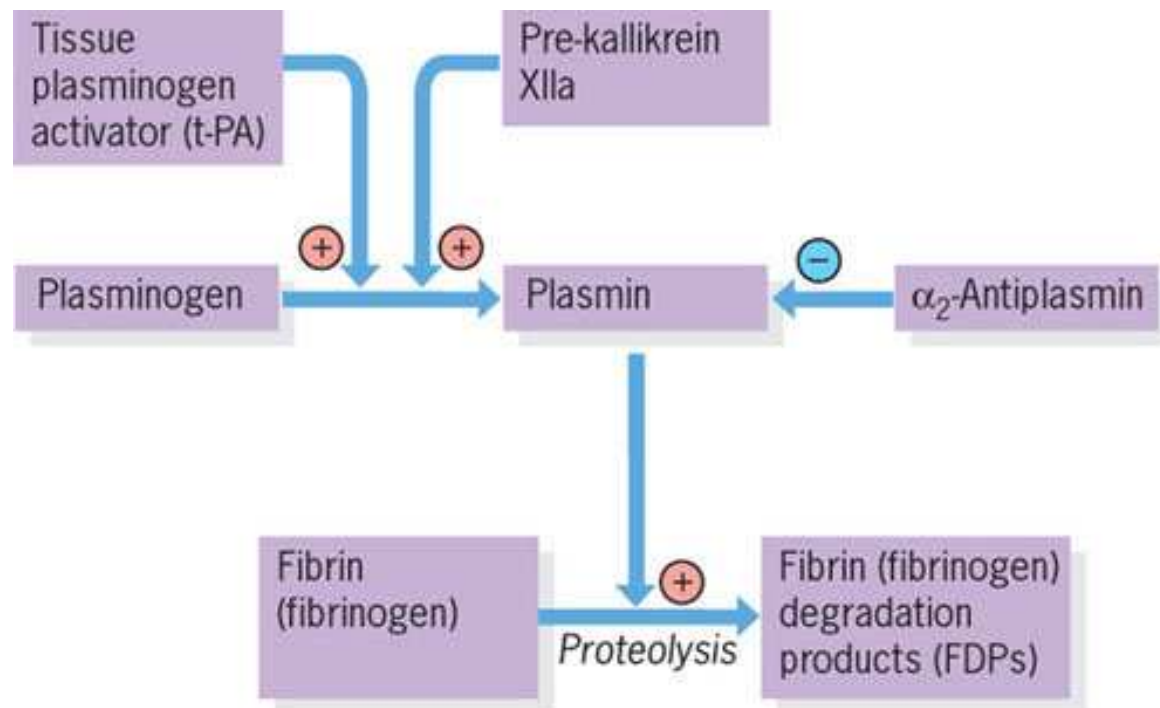
- V důsledku extenzivní koagulace a fibrinolýzy dochází k vyčerpání koagulačních faktorů s masivním krvácením do intersticia.
- Příčiny: infekce, malignity, porod, porodnické komplikace, nemoci jater



## D. Primární fibrinolýza

- Zvýšení fibrinolýzy mohou způsobit některé živočišné toxiny; nadbytek tkáňového plazminogenového aktivátoru (tPA) např. u pacientů s cirhózou jater
- Při primární fibrinolýze je krvácivý stav způsoben ↓ hladiny fibrinogenu v krvi
- Jinou příčinou může být vrozený nedostatek inhibitoru plazminového aktivátoru nebo  $\alpha$ -plazminového inhibitoru

# Fibrinolýza



© Elsevier Science Ltd

# HYPERKOAGULAČNÍ STAVY (TROMBOFILIE)

- Trombózou rozumíme vytváření krevních sraženin uvnitř cirkulačního systému přichycených k cévní stěně nebo endokardu
- Hlavní příčinou je porucha mechanismů které mohou zabránit nebo utlumit srážení krve
- Přirozené antikoagulační faktory zahrnují
  - specifický endotelový protein trombomodulin
  - Plazmatické proteiny: protein C, protein S a antitrombin III

## – Trombomodulin

- Protein vytvářený v klidových nestimulovaných endoteliích a exprimovaný na jejich buněčné membráně
- Váže k sobě trombin jako cílový enzym koagulační kaskády
- Vazbou trombinu k trombomodulinu dochází ke změně substrátové specifity trombinu, který začne místo fibrinogenu preferovat protein C
- Takto modifikovaný protein C se stává aktivní proteázou se substrátovou specificitou vůči faktorům VIIIa a Va

## – Protein S

- Plazmatický protein jaterního původu je podmíněna na vitamínu K závislou  $\gamma$ -karboxylací zbytků glutamové kyseliny

## – Antitrombin III

- Inhibuje účinnost prokoagulačních faktorů trombinu IIa a faktoru Xa

## Tabulka 1: Přehled fyziologických a patofyziologických stavů zvyšujících riziko vzniku trombů

Vrozené predispozice	Získané stavy
<p><b>Porucha inhibice koagulačních faktorů</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rezistence faktoru V vůči aktivovanému proteinu C</li> <li>• Nedostatek proteinu C</li> <li>• Nedostatek proteinu S</li> <li>• Nedostatek antitrombinu III</li> </ul>	<p><b>Fyziologické stavy a komplikace léčby</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vysoký věk</li> <li>• Těhotenství a období po porodu</li> <li>• Podávání estrogenů včetně perorální antikoncepce</li> <li>• Obezita</li> <li>• Celková imobilizace</li> </ul>
<p><b>Porucha fibrinolýzy</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dysfibrinogenémie</li> <li>• Nedostatek plazminogenu</li> <li>• Nedostatek tPA</li> <li>• Nadbytek PAI-1</li> </ul>	<p><b>Patologické stavy</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Trombotická trombocytopenická purpura</li> <li>• Hyperviskózní syndromy</li> <li>• Nádorové onemocnění a myeloproliferační syndromy</li> <li>• Srdeční selhání</li> <li>• Paroxysmální noční hemoglobinurie</li> <li>• Hyperlipidémie</li> <li>• Diabetes mellitus</li> <li>• Nefrotický syndrom</li> </ul>

# Vrozené hyperkoagulační stavy

- Klinickým projevem jsou opakované žilní trombózy a tromboembolie do plic
- Výskyt již v mladém věku
- **Vrozený nedostatek nebo snížená fce antitrombinu III**
  - ↑riziko vzniku trombů již při snížení jeho hladiny pod 50 %
- **Nedostatek proteinu C nebo S**
- **Rezistence faktoru V vůči proteinu C**
  - Opakující se venózní trombózy a tromboembolie do plic
- **Některé formy dysfibrinogenémie**
  - Mutace v řetězcích tvořící molekulu fibrinogenu mohou snižovat jeho konverzi na fibrin působením trombinu (faktoru IIa) a způsobit poruchu srážení krve, byly popsány i mutace působící opačně

# Vrozené hyperkoagulační stavy II

## Rezistence faktoru V k proteolytickému štěpení

- Nejčastější vrozená příčina hyperkoagulačních stavů jsou mutace faktoru V způsobující jeho rezistenci k proteolytickému štěpení aktivovaným proteinem C
- Vmolekule faktoru V je zaměněna AMK arginin za glutamin → **leidenská mutace** (nositeli cca 3 % lidí)
- Heterozygotní stav zvyšuje riziko tromboembolické nemoci 7x
- Homozygotní stav 20x

# Získané hyperkoagulační stavy

- Poškození endoteliální výstelky cévně-srdečního systému nejčastěji vlivem aterosklerotických změn, poraněním a zánětem
- Zpomalení průtoku krve při srdečním selhání, hyperviskózním syndromu, imobilizaci, vzniku turbulentního proudění
- Trombocytémie nebo stavy po splenektomii
- Patologická přítomnost tkáňového faktoru v cirkulaci (nádorová onemocnění, sepse, porod, velké operace..)
- Užívání perorální antikoncepce obsahující estrogeny ↓ hladinu antitrombinu

III



# Tvorba trombu

Destičky



Erythrocyty

Fibrin

# Koagulační testy

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

**Děkuji za pozornost**



**MUNI  
MED**

MUNI

MED