

# 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 (MCV), aPTT, PT, fibrinogen

## Globální testy prim. hemostázy:

- doba krvácení: - Duke  
- Ivy (Simplat R)
- Rumpel - Leedeheho 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



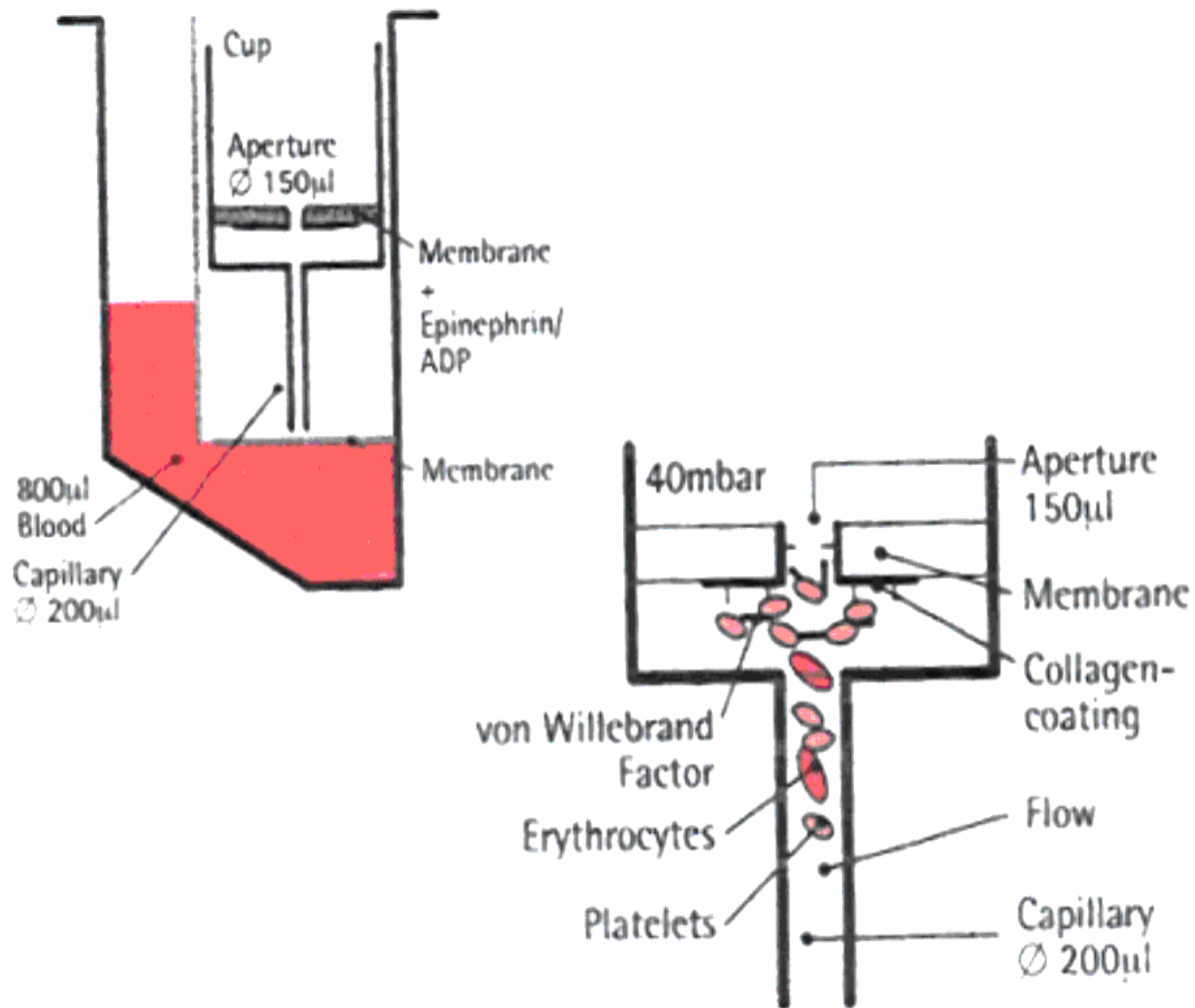
# Typ dědičnosti

- 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 Salzmána
- 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 $\alpha$  = 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**
- **krváčení**
  - **perifolikulární**
  - **z dásní**

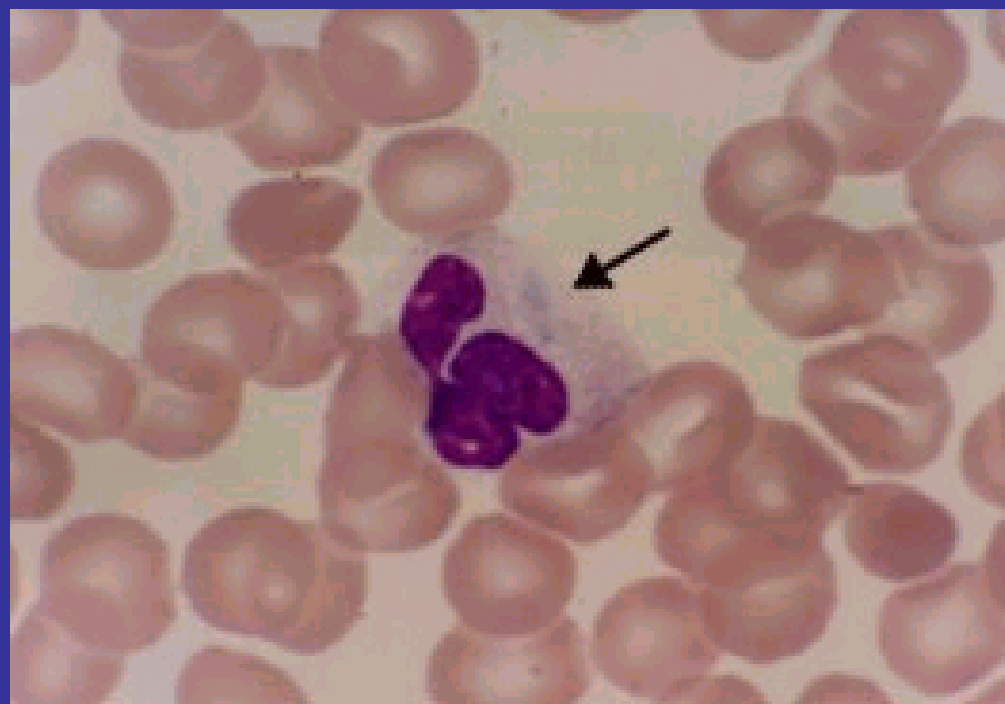
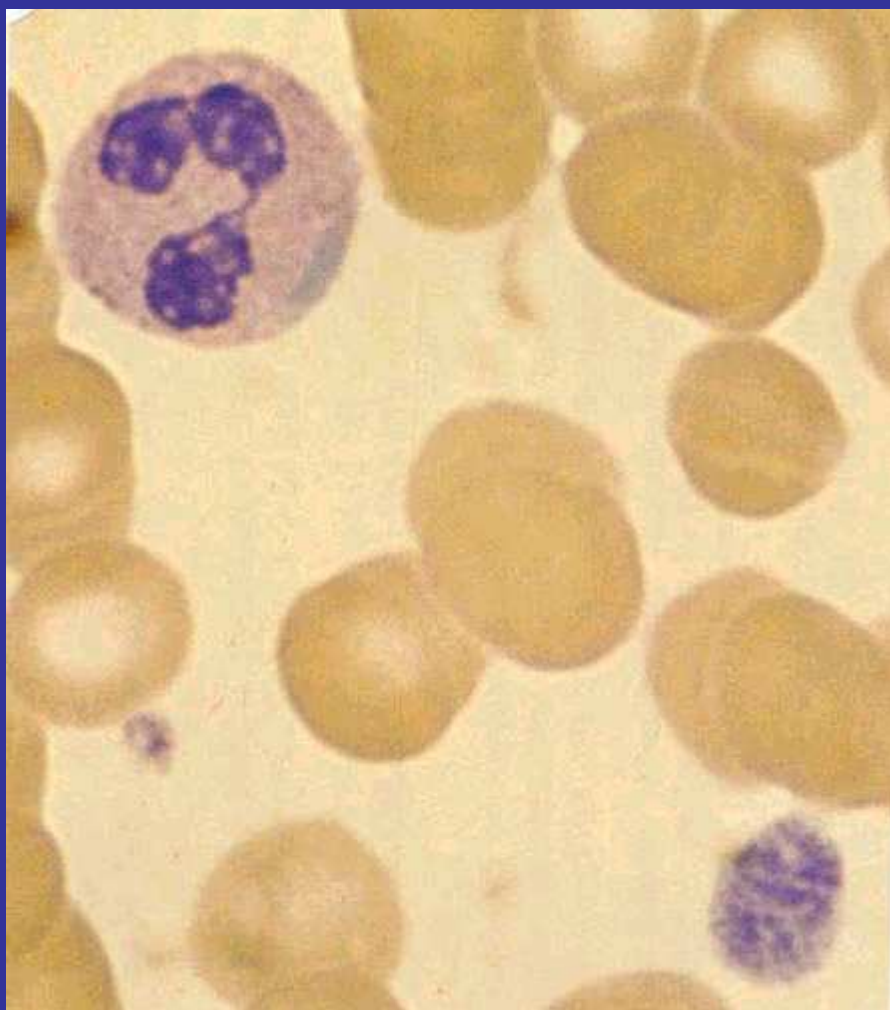
# Hereditární makro - trombocytopenie I

- 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)
  - $\alpha$ 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  $\alpha$ -granula
  - mikroMGK, zmnožení MGK
  - ment. retardace, vady srdce, obličej (Jacobsen)
- **Velokardiofaciální sy** (AD/R, fu – P: ristocetin)
  - delece (22q11) – defekt GPIIb $\beta$  (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  $45 \times 10^9$  /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 radioulnární 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  $\alpha$  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 x10<sup>9</sup> /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  $\alpha$  gr.
  - GP IIb/IIIa < 5%
  - II: - norm. FBG v  $\alpha$  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  $\alpha$ adrenergního receptoru
  - patol. agregace po epinefrinu

# Hereditární normo - trombocytopenie II

Defekt  $\delta$  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  $\mu$ 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,
- $\delta$  granulí: Wiskott-Aldrich, Heřmanský-Pudlák, Chediak-Higashi sy
- $\alpha$  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 <sup>14</sup>C-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