

# DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA ZABURZEŃ HEMOSTAZY

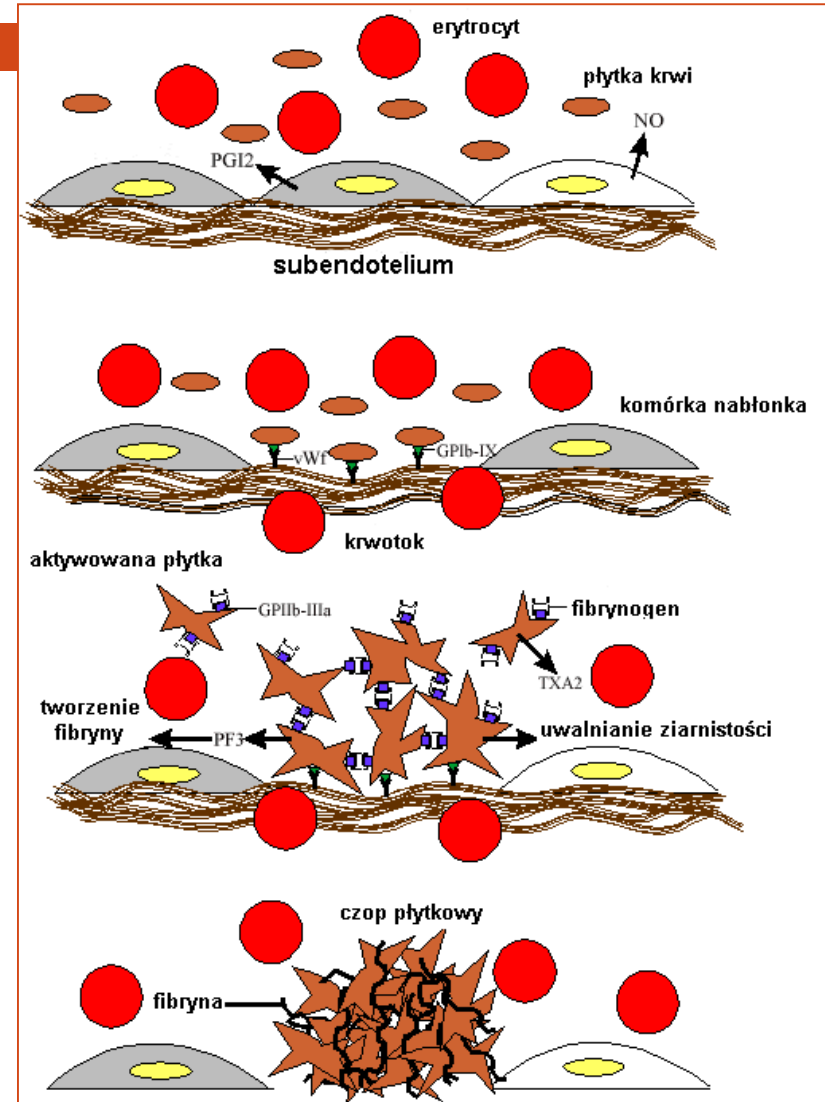
Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej

i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego WUM

# Fizjologia krzepnięcia

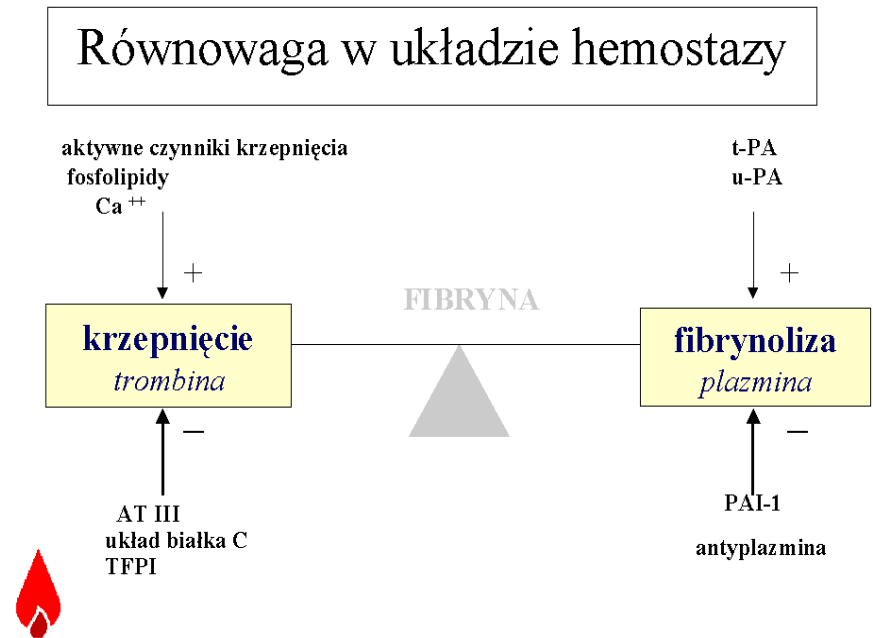
- Zapewnienie płynności krwi krążącej
- Utrzymanie szczelności łożyska naczyniowego
- Hamowanie krwawienia po przerwaniu ciągłości ściany naczyń krwionośnych

- Ściany naczyń krwionośnych
- Płytki krwi
- Osoczowe czynniki krzepnięcia
- Białka układu krzepnięcia
- Białka układu fibrynolizy



# Mechanizm zachowania hemostazy

- Skurcz mięśni gładkich naczyń
- Tworzenie czopu płytkowego
- Aktywacja drogi zewnętrznej i wewnątrzprochodnej krzepnięcia
- Stabilizacja czopu płytkowego przez fibrynę
- Przywrócenie ciągłości ściany naczyń
- Rozpuszczenie stabilizowanego skrzepu
- Przywrócenie swobodnego przepływu krwi w naczyniu

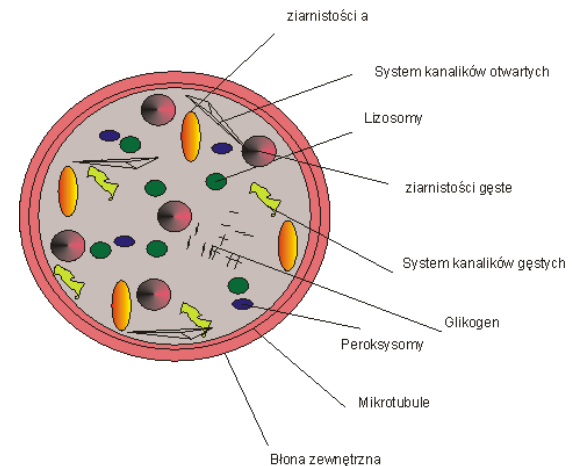


# Ściany naczyń krwionośnych

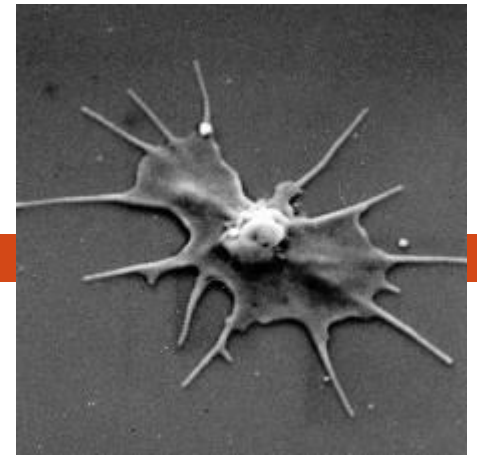
- Intima składa się z śródbłonna i błony podstawnej
- Śródbłonek – przeciwzakrzepowo,
  - Glikokaliks „odpycha” płytki
  - Siarczan heparanu aktywuje antytrombinę
  - Prostacyklina  $\text{PGI}_2$  hamuje agregację płytek
  - $\text{NO}^*$  hamuje adhezję
- błona podstawna – aktywuje płytki krwi

# Płytki krwi

- 140-440 G/l
- Cytoplazma megakariocytów
- Przeżywają 8-12 dni
- Usuwane przez układ siateczkowo-śródbłonkowy
- Czynniki pobudzające – trombopoetyna, IL-3, IL-11
- Pula śledzionowa – ok. 30%



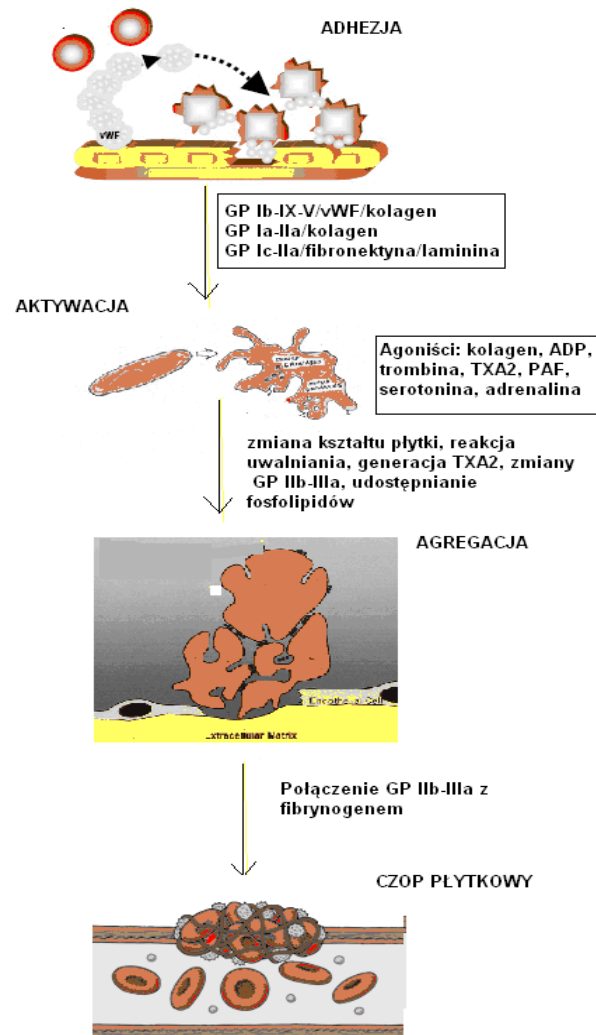
# Płytki krwi



- Nadpłytkowość  $PLT > 600 \times 10^3 / \mu l$
- Małopłytkowość  $PLT < 100 \times 10^3 / \mu l$
- Poziom hemostatyczny  $PLT 35-40 \times 10^3 / \mu l$
- Poziom zagrażający życiu  $< 10 \times 10^3 / \mu l$

|                    |   |
|--------------------|---|
| Ziarnistości a     | PF4, b-tromboglobulina, fibronektyna, vWF, trombospondyna, fibrynogen, cz.V, wielkocząsteczkowy kininogen, cz. XI, białko S, t-PA, PAI-1, PDGF, P-selektyna, GP IIb- IIIa, GP Ib-IX, osteonektyna |
| Ziarnistości gęste | ADP, ATP, GDP, GTP, $Ca^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , serotonina, fosfoinozytole  |
| Lizosomy           | Kwaśne hydrolazy  |
| Peroksosomy        | Katalaza  |

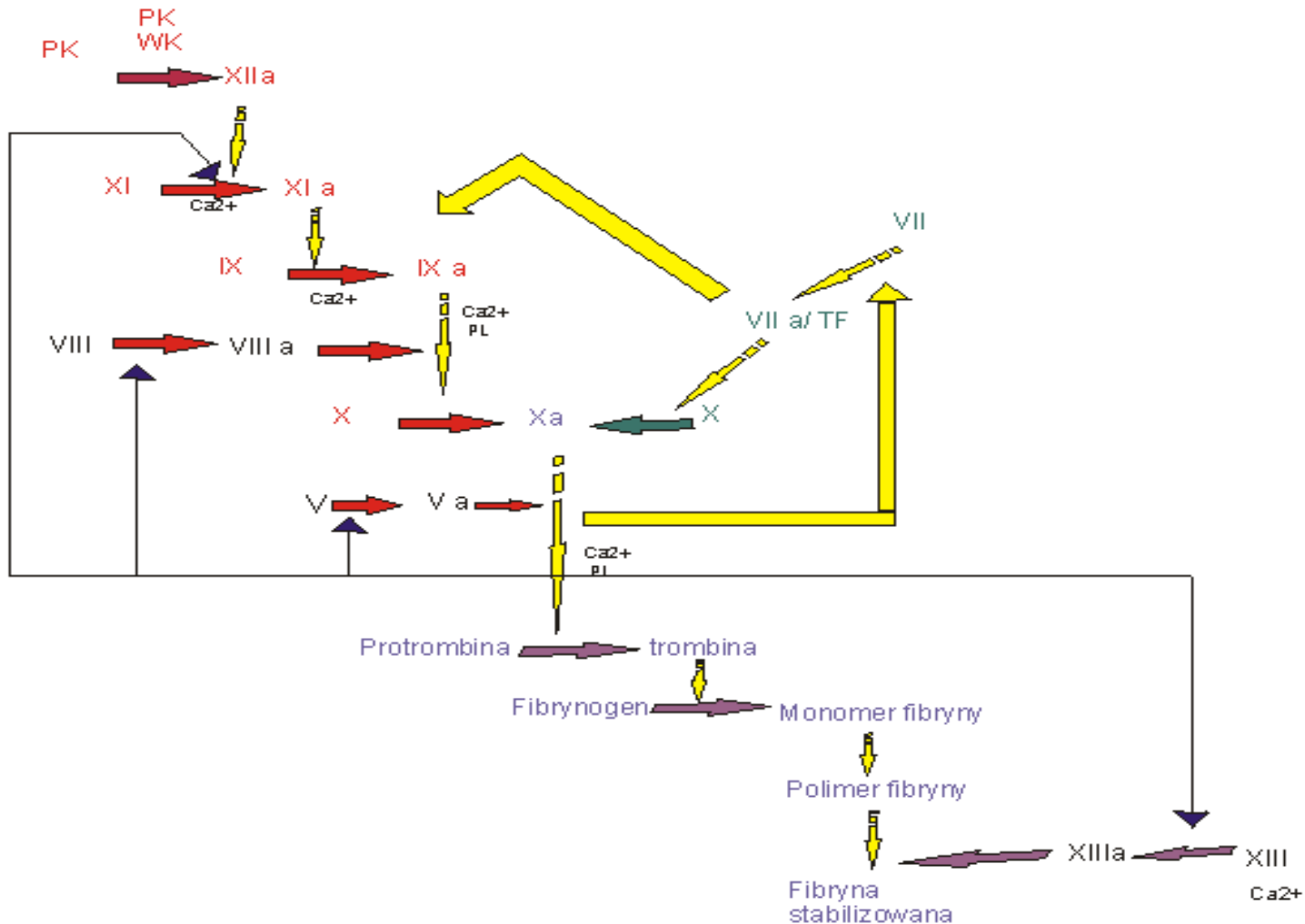
# Przebieg hemostazy pierwotnej



# Aktywacja krzepnięcia

## Układ wewnątrzpochodny

## Układ zewnątrzpochodny





# Czynniki krzepnięcia

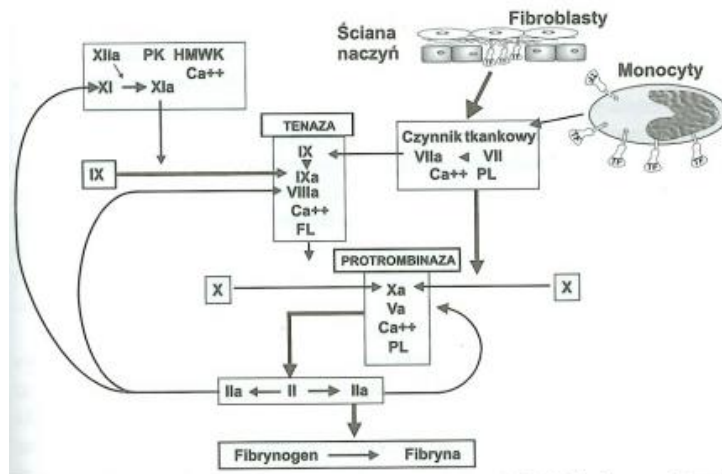
- **Cz. zespołu protrombiny (zależne od wit. K - II, VII, IX, X)** – produkowane w komórkach mięszu wątroby przy udziale wit. K. Wit K. jest kofaktorem potranslacyjnej karboksylacji kw. glutaminowego w cząsteczce białek prekursorowych. Kwas  $\gamma$ - karboksylglutaminowy jest niezbędny do wiązania jonów wapnia
- **Aktywowane przez trombinę (I, V, VIII, XIII)**
- **Czynniki kontaktu (XI, XII, prekalkreina, WK)** - białka kofaktorowe , produkowane w wątrobie, niezbędne do aktywacji krzepnięcia w kontakcie z ujemnie naładowanymi powierzchniami

# Czynniki krzepnięcia – układ zewnątrzpochodny

- **TF** (czynnik tkankowy) – glikoproteina, integralny składnik pobudzonych błon komórkowych śródbłonna, uwalniany przez fibroblasty. Receptor dla czynnika VII.
- **Cz. VII** – prokonwertyna, syntetyzowany w hepatocytach przy udziale witaminy K. Podwyższone stężenie czynnika VII w osoczu może towarzyszyć nadkrzepliwości, chorobie niedokrwiennej serca, udarom niedokrwinnym mózgu oraz koreluje ze śmiertelnością z powodu choroby wieńcowej i zawału mięśnia sercowego. 1-2% VIIa stale krąży w osoczu

# Uaktualniona wersja aktywacji układu hemostazy

- Aktywne enzymy przemieszczają się pomiędzy kompleksami czynników
- Komplex związany z czynnikiem tkankowym (TF, VII, VIIa [IXa, Xa])
- Komplex tenazy (VIIIa, IXa, XIa, X)
- Komplex protrombinazy (Va, Xa, II)



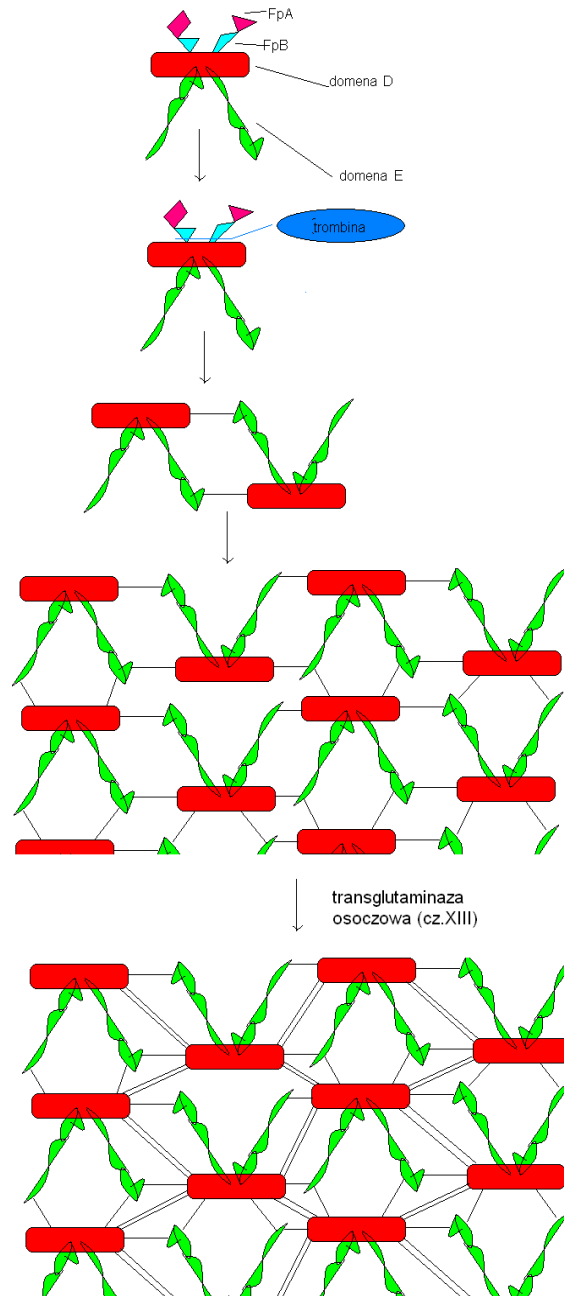
# Czynnik von Willebranda

- Komórki śródbłonna, megakariocyty i syncytiotrofoblast
- Przechowywany w postaci ciałek Weibela-Pallade'a w komórkach śródbłonna
- Stężenie zależne od grupy krwi
- Stabilizuje i aktywuje cz. VIII
- Bierze udział w agregacji płytek krwi

# Cz. I. - Fibrynogen

- Produkowany przez hepatocyty, obecny w ziarnistościach  $\alpha$  płytek. Jest fagocytowany przez płytki po związaniu z receptorem GP IIb-IIIa. Brak receptora – trombastenii Glanzmanna.
- **Afibrynogenemia** – ch. Autosomalna recesywna (krwawienia z pępowiny, poronienia, krwotoki z błon śluzowych, złe gojenie ran)
- **Dysfibrynogenemia** – zmniejszona lub zwiększona krzepliwość.

# Fibryna

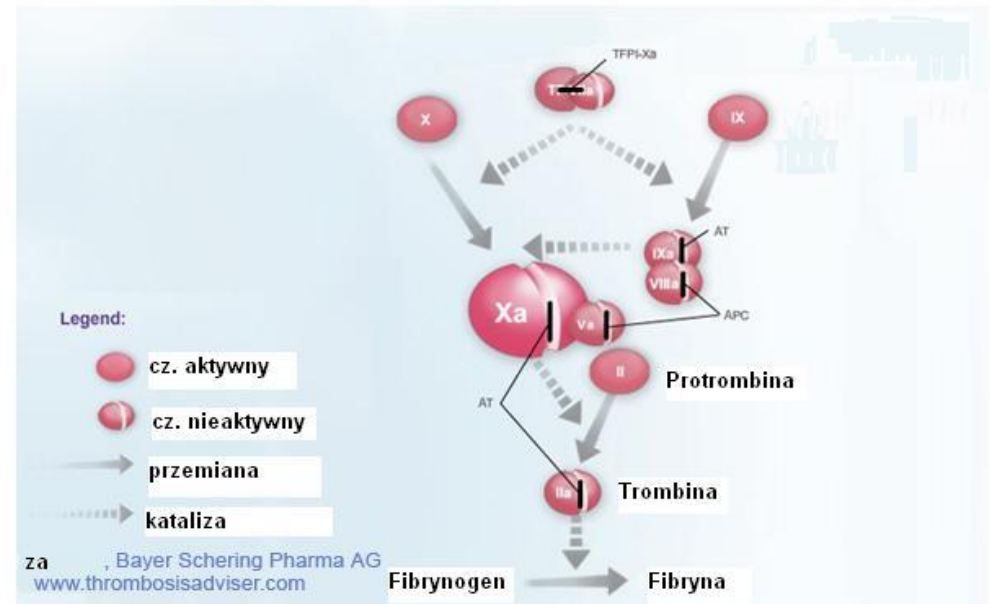


# Naturalne inhibitory krzepnięcia

- Zapewniają utrzymanie płynności krwi krążącej
- **AT (antytrombina)** – unieczynnia trombinę, Xa, IXa, XIa, XIIa i VIIa/TF.
- Heparyna jest kofaktorem antytrombiny – wiązanie z miejscem aktywnym. Wiązanie heparyny zwiększa dostępność miejsc wiążących trombinę.
- Produkowana w wątrobie

# Naturalne inhibitory krzepnięcia – układ białka C i TFPI

- **Białko C** (wit. K – zależne)
- **Trombomodulina,**
- **śródbłonkowy receptor dla białka C (EPCR),**
- **białko S** (wit. K – zależne)
- **TFPI** – inhibitor zewnątrzpo pochodnego szlaku krzepnięcia (Tissue factor pathway Inhibitor - śródbłonek)

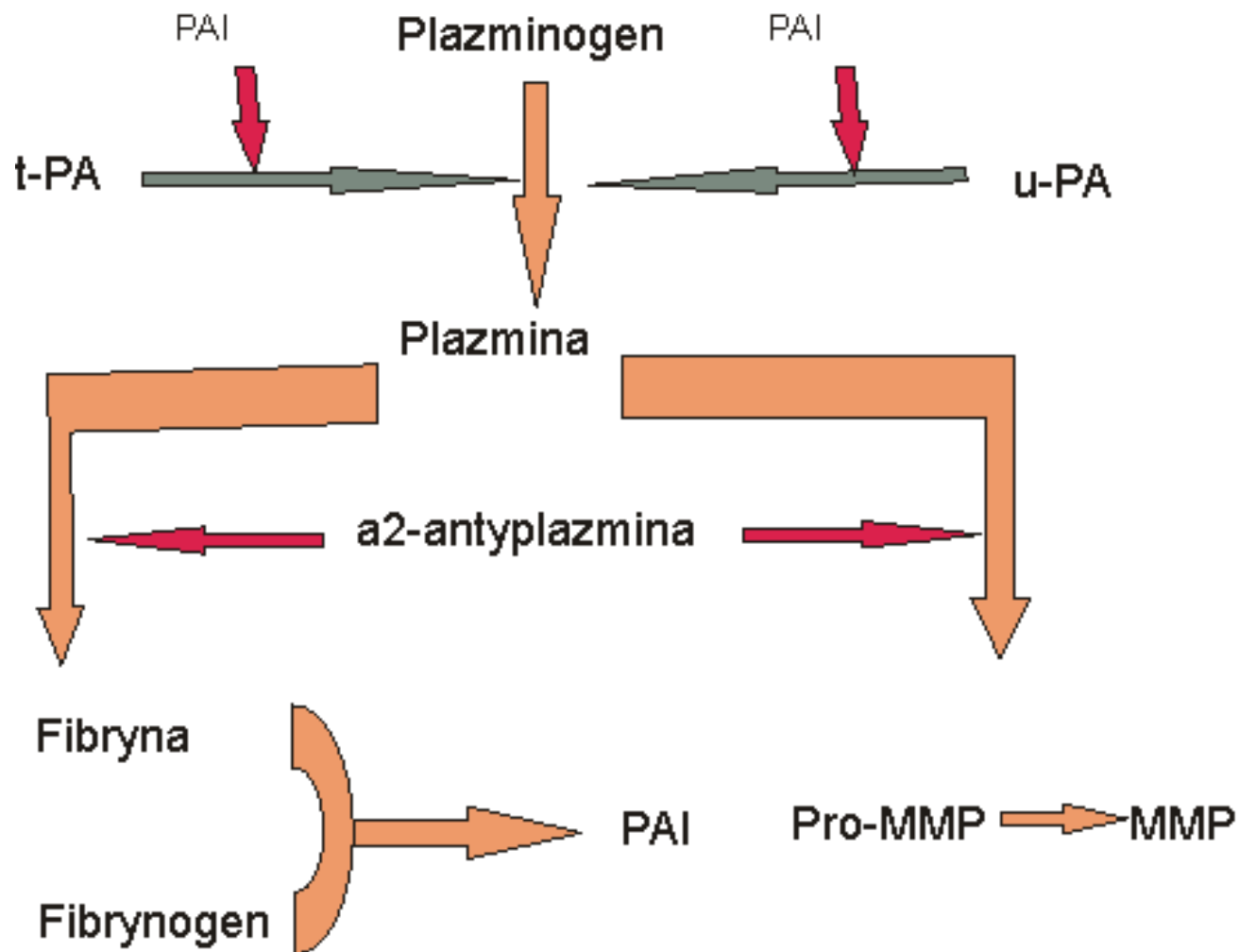




# Fibrynoliza

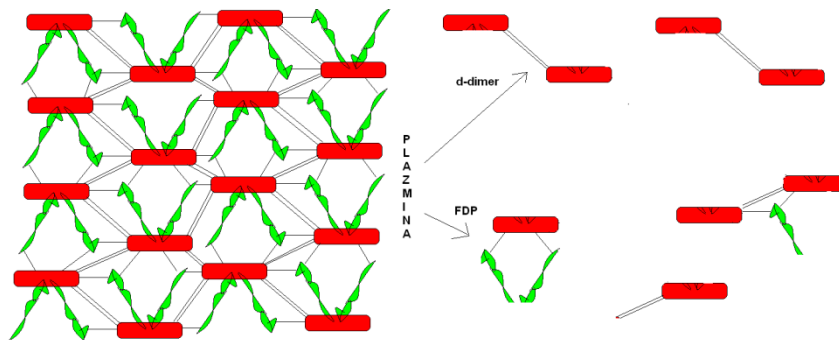
- Rozpuszczenie zakrzepu
- Elementy układu:
  - **Plazminogen – plazmina** (wątroba)
  - **t – PA** (tkankowy aktywator plazminogenu)(śródbłonek)
  - **u – PA** (urokinazowy aktywator plazminogenu) (śródbłonek, monocyty, makrofagi) może być aktywowany przez cz. XII
  - **PAI** – inhibitor aktywatora plazminogenu (śródbłonek, megakariocyty, łożysko)
  - **$\alpha_2$  – antyplazmina** (nerki, wątroba)
  - **TAFI** – inhibitor fibrynolizy aktywowany przez trombinę

# Fibrynoliza



# Produkty rozpadu fibryny/ fibrynogenu

- Plazmina działając na **fibrynogen** i fibrynę doprowadza do powstania produktów degradacji fibrynogenu (**FDP**)



- FDP** posiadają właściwości antykoagulacyjne, hamują funkcję płytek, polimeryzację monomerów fibryny, stymulują syntezę fibrynogenu. Zwiększają przepuszczalność naczyń włosowatych, działają immunosupresyjnie i cytotoksycznie
- ↑ **FDP**: DIC, zespoły zakrzepowo-zatorowe, operacje, stany zapalne, nowotwory, choroby wątroby i nerek, stosowanie egzogennych estrogenów, ciąża, leczenie trombolityczne

# D-dimery

**D-dimery** są bezpośrednimi markerami fibrynolizy (produkcji plazminy) oraz pośrednim wskaźnikiem procesu koagulacji (produkcji trombiny). Oporne na trawienie plazminą.

Okres półtrwania D-dimerów we krwi wynosi 8 godzin

Oznaczanie dwiema metodami (znaczne różnice w wartościach referencyjnych)

D-dimery działają antykoagulacyjnie, chemotaktycznie, cytotoksycznie i immunosupresyjnie.

# Badania w diagnostyce układu hemostazy

## NACZYNIOWE

**Czas krwawienia metodą Ivy**

## PLYTKOWE

**Czas krwawienia – BT**

Badania czynnościowe: Adhezja i agregacja płytek

**Liczba płytek krwi –PLT**

Reakcja uwalniania

**Rozmaz krwi obwodowej**

Ocena zawartości ziarnistości płytek

Czas zużycia protrombiny

## OSOCZOWE

**Czas kaolinowo-kefalinowy – aPTT – (k-k) -czas częściowej tromboplastyny po aktywacji**

**Czas protrombinowy – PT**

Poszczególne czynniki krzepnięcia: VIII, VII, XIII

**Czas trombinowy – TT**

Krążące antykoagulanty

**Czas rekalcynacji – CT**

Inhibitory krzepnięcia:

**Fibrynogen**

*Antytrombina –AT*

*Białko C, białko S*

# Zasady pobierania krwi do badań koagulologicznych

**RANO, NA CZCZO ( lub lekki posiłek beztłuszczowy)**

**W WARUNKACH SPOKOJU, BEZ STRESU**

**KREW ŻYLNĄ NA 3,2% CYTRYNIAN SODU (1 cz. cytrynianu - 9 cz. krwi) –  
objętość zależy od hematokrytu pacjenta**

**BEZ STAZY lub UCISK ok. 30 sek**

**OSTRE, DOŚĆ GRUBE IGLY**

**KREW PO ODRZUCENIU PIERWSZYCH 2-3 ML**

**PLASTIKOWE PROBÓWKI**

**BARDZO DELIKATNE MIESZANIE KRWI TUŻ PO POBRANIU**

**(3-4 krotne odwrócenie probówki do góry dnem - nie wolno spenić!**

**NIEZWŁOCZNIE ODWIROWAĆ PRÓBKĘ KRWI**

**(10 min – 3 tys. obrotów/min)**

**BADANIA WYKONAĆ W CIĄGU MAX 2 GODZIN OD POBRANIA**



# Czas krwawienia

- Czas od chwili uszkodzenia naczynia do samoistnego ustania krwawienia
- **Metoda Ivy z modyfikacją Mielke**

pomiar czasu wypływu krwi od momentu dokonania nacięcia na skórze przedramienia o dł. 5 mm i głębokości ok. 0,5 mm (zestawy np. Simplate) przy ciśnieniu 40 mmHg do braku śladu krwi na przykładanej do nacięcia bibule filtracyjnej.

- **Wartości prawidłowe 2 – 10 min**

## Wydłużenie czasu krwawienia:

Małopłytkowość, trombastenia Glanzmana, ch. von Willebranda, niektóre trombocytopatie, skazy krwotoczne z hipofibrynogenemią, po aspirynie (blokada aktywności cyklooksygenazy płytkowej)

# APTT – czas kaolinowo-kefalinowy

- Czas częściowej tromboplastyny po aktywacji
- Wydłużenie czasów przy obniżeniu aktywności czynników do 40-50%
- Wynik zależy od obecności cz. kontaktu i cz. **VIII i IX**
- Wrażliwy na niedobory cz. V, X, II, I oraz obecność heparyny i krążących antykoagulantów
- Przydatny w monitorowaniu leczenia heparynami niefrakcjonowanymi
- Wpływa wiek (dzieci ↑), płeć i grupa krwi



# APTT 25 – 40 sek.

## ↑ APTT

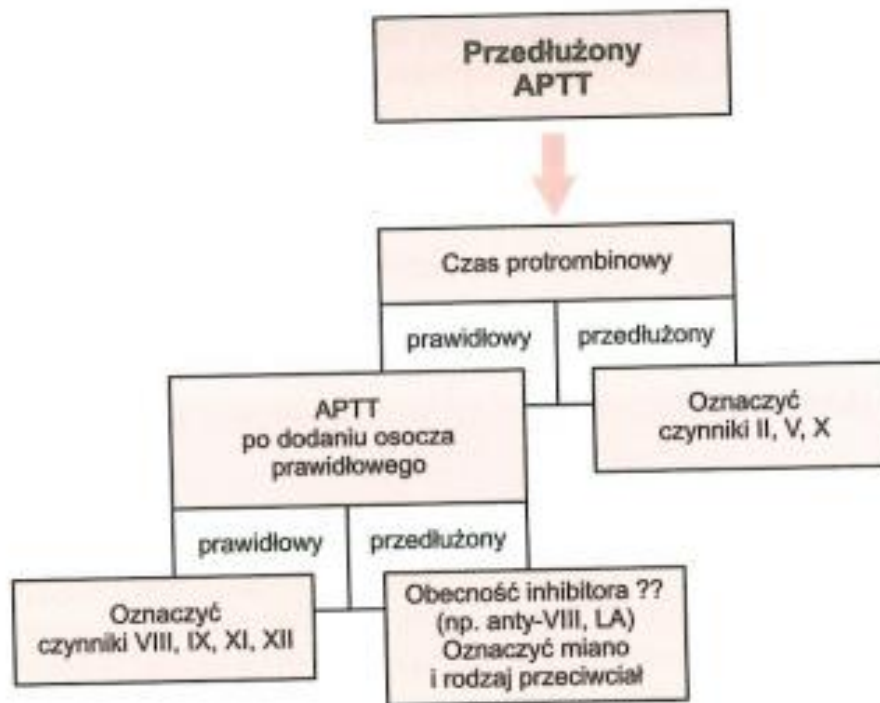
- Niedobór cz. II, V, VIII, IX, X, XI, XII, I, PK i WK
- Obecność heparyny
- Krążący antykoagulant
- Antykoagulant tocznia
- vWD
- DIC
- Ch. Wątroby
- Niedobór wit. K

## ↓ APTT

- Nadkrzepliwość
- Niewłaściwe pobranie krwi

# Testy korekcji aPTT

- Zmieszanie osocza pacjenta z osoczem osoby zdrowej
- Korekta wyniku uzyskanego uprzednio od pacjenta – niedobór czynnika krzepnięcia
- Brak korekcji wyniku uzyskanego uprzednio od pacjenta – obecność inhibitora
- Wykrywanie inhibitora cz. VIII – inkubacja 2h
- Metoda Bethesda i Nijmegen – ocena miana inhibitora



Ryc. 4.5. Diagnostyka różnicowa w przypadku przedłużonego czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji – APTT.

# PT – czas protrombinowy

- Wynik zależy od obecności cz. II, V, VII, X i fibrynogenu

|   |  |  |
|---|--|--|
| <b>CZAS PROTROMBINOWY</b>                                   | <b>Czas (sekundy)</b>  | <b>11 – 13 sek</b><br><b>12 – 16 sek</b> |
| <b>WSKAŹNIK<br/>PROTROMBINOWY</b>                           | <b><math>\frac{\text{PT prawidłowy}}{\text{PT pacjenta}} \times 100</math></b> | <b>80 – 120 %</b>                        |
| <b>WSPÓŁCZYNNIK<br/>PROTROMBINOWY - R</b>                   | <b><math>\frac{\text{PT pacjenta}}{\text{PT prawidłowy}}</math></b>            | <b>0,85 – 1,15</b>                       |
| <b>INR – międzynarodowy<br/>współczynnik znormalizowany</b> | <b><math>R^{ISI}</math><br/>ISI – międzynarodowy indeks<br/>czułości</b>       | <b>0,9 – 1,25</b>                        |

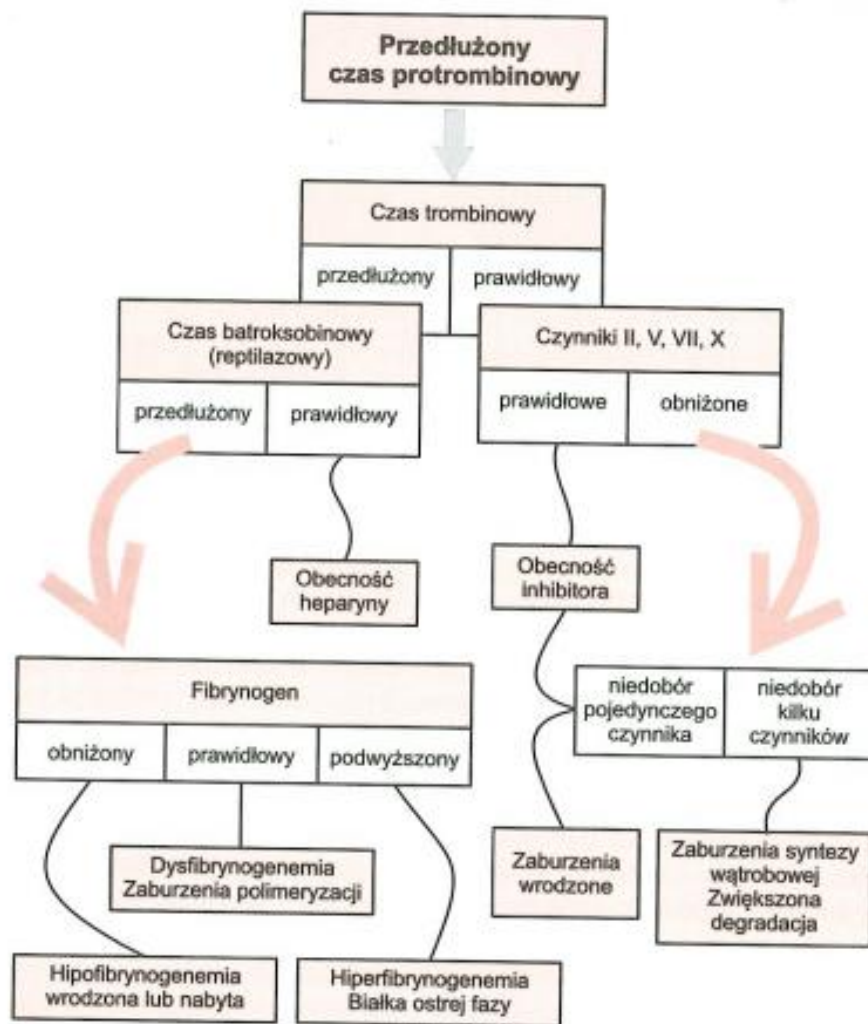
# INR

## ↑ INR

- Stosowanie doustnych antykoagulantów
- Choroby miąższu wątroby
- Niedobór wit. K
- DIC
- Wrodzone niedobory cz. II, V, VII i X

## ↓ INR

- Niewłaściwe przechowywanie osocza
- zakrzepica



Ryc. 4.4. Diagnostyka różnicowa w przypadku przedłużonego czasu protrombinowego – PT.

**Za Raszeja-Specht A. Badania układu hemostazy w praktyce laboratoryjnej**

# Czas trombinowy (16-21 sek)

- Pomiar czasu krzepnięcia osocza po dodaniu stałej ilości trombiny

↑TT

- Hipo- dysfibrinogemia
- Obecność FDP i heparyny
- Hipoalbuminemia
- Leczenie heparyną niefrakcjonowaną

↓TT

- Aktywacja układu krzepnięcia

# Czas reptylazowy (batroksobinowy, ankrodowy) 16-22 sek

- czas krzepnięcia osocza po aktywacji trombinopodobnym enzymem – reptylazą lub ankrodem wyizolowanym z jadu węża
- czas reptylazowy jest miarą przejścia fibrynogenu w fibrynę. Na pomiar czasu reptylazowego nie mają wpływu heparyna, hirudyna i immunologiczne antytrombiny

↑ hipo i dysfibrynogenemia

Obecność FDP

Szpiczak plazmocytowy



# Fibrynogen 2-5 g/l

- Czynnik I, dodatnie białko ostrej fazy
- bierze udział w transporcie cholesterolu i tworzeniu k. piankowatych, powoduje rozrost mięśni gładkich – zw. Miazdżycorodny

↑ okres pooperacyjny

ch. Nowotworowe

w przebiegu zmian zapalno-martwiczych

↓ DIC

Niedobór fibrynogenu

Stany przebiegające z uczynnieniem fibrynolizy

# D-dimery (< 500 ng/ml)

↑ d-dimerów

- choroba zakrzepowo-zatorowa
- zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego
- Nowotwory, zakażenia
- choroba wieńcowa i zawał serca
- reumatoidalne zapalenie stawów
- urazy i operacje, terapia trombolityczna
- posocznica
- Ciąża, połóg, terapia estrogenowa
- osoby starsze
- Wysokie miano cz.reumatoidalnego interferuje z oznaczeniem d-dimerów

*D- dimery posiadają wysoką wartość predykcyjną ujemną*

# Ograniczenia oznaczania D-dimerów

- Osoby w podeszłym wieku, w ciąży
- Choroby nowotworowe, osoby hospitalizowane
- Zakrzepica o lokalizacji dystalnej
- Obecność „starej” skrzepliny
- Po rozpoczęciu leczenia heparyną

# Antytrombina (75-125 %)

□ Aktywność antytrombiny jest fizjologicznie obniżona u kobiet w ciąży.

↓ marskość wątroby, choroby śródmiąższowe wątroby, DIC, u kobiet przyjmujących doustne środki antykoncepcyjne, trombofilia, zespół nerczycowy, leczenie heparyną, noworodki

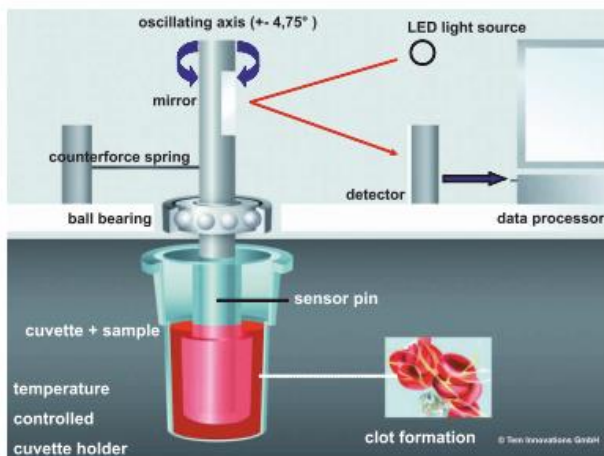
↑ stany zapalne i niedobór witaminy K

# Tromboelastometria / tromboelastografia

- Metody śródoperacyjnego oznaczania aktywności układu krzepnięcia

| Tromboelastometria  | Tromboelastografia  |
|---|---|
| Rodzaj próbki   |   |
| Krew pełna:<br>próbka natywna lub<br>zawierająca aktywatory i inhibitory<br>procesu krzepnięcia | Krew pełna:<br>próbka natywna   |
| Sposób wykonania badania  |   |
| Nieruchoma kuweta pomiarowa,<br>ruchomy pin   | Ruchoma kuweta pomiarowa,<br>nieruchomy pin                                 |
| Parametry badane  |   |
| Czas krzepnięcia, czas tworzenia skrzepu,<br>przyrost skrzepu, liza skrzepu                     | Czas krzepnięcia, czas tworzenia skrzepu,<br>przyrost skrzepu, liza skrzepu |

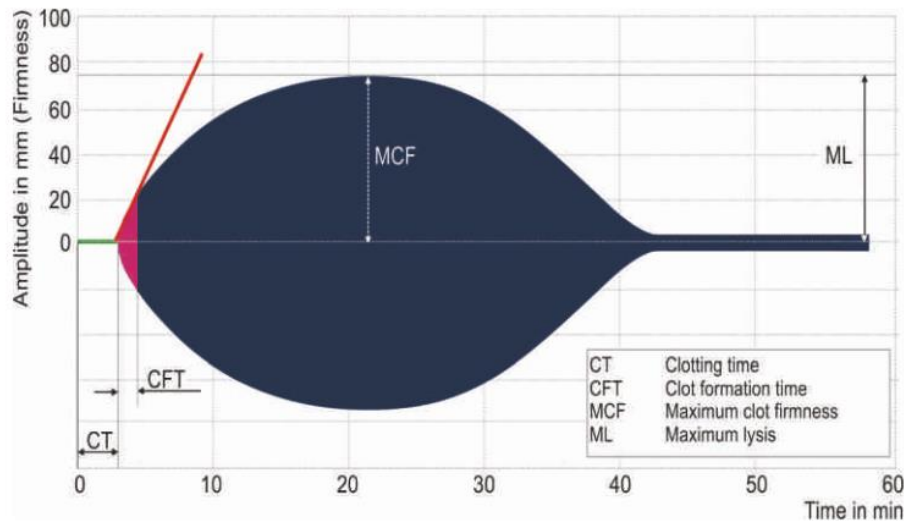
# ROTEM/TEG



- INTEM – Indukcja wewnętrznych drogi krzepnięcia
- EXTEM – indukcja zewnętrznych drogi krzepnięcia
- FIBTEM – ocena aktywności fibrynogenu przez blokadę płytek
- HEPTEM – dodatek heparynazy rozkłada heparynę w próbce (pomiar INTEM)
- APTEM – dodatek aprotyniny hamuje plazminę (pomiar EXTEM)



# ROTEM



- CT - czas krzepnięcia
- CFT - czas tworzenia się skrzepu
- MCF - maksymalna spójność skrzepu
- Kąt alfa - dynamika narastania skrzepu
- ML - maksymalna liza skrzepu

# ROTEM



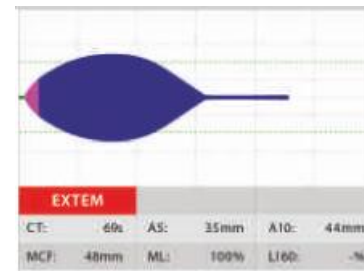
CZ. VII, X, V, II, I,  
Płytki, fibrynogen



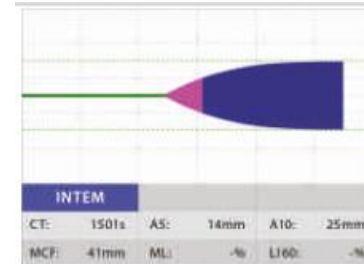
VIII, IX, X, XI, XII,  
I, II, V, płytki,  
fibrynoлиза



Aktywacja fibryny



Rozpoznanie  
masywnej  
hiperfibrynoлиза



Badania u  
pacjentów  
przyjmujących  
heparynę





# ROTEM

|               | <b>CT</b>   | <b>CFT</b>          | <b>MCF</b>            | <b>ML</b>     |
|---------------|---|---------------------|-----------------------|---------------|
|               | clotting time   | clot formation time | maximum clot firmness | maximum lysis |
|               | [s]   | [s]                 | [mm]                  | [% of MCF]    |
| <b>EXTEM</b>  | 38-79   | 34-159              | 50-72                 | < 15          |
| <b>INTEM</b>  | 100-240   | 30-110              | 50-72                 | < 15          |
| <b>HEPTEM</b> | Znacząco skrócony CT w HEPTEM w porównaniu do INTEM wskazuje na obecność heparyny   |                     |                       |               |
| <b>APTEM</b>  | Nasilone wykrzepianie (skrócenie CFT, wyższe MCF) w APTEM w porównaniu do EXTEM wskazuje na fibrynolizę   |                     |                       |               |
| <b>FIBTEM</b> |   |                     | 9-25                  |               |
|               | <p>MCF &lt; 9 mm      obniżone stężenie fibrynogenu lub zaburzenie polimeryzacji</p> <p>MCF &gt;      podwyższenie stężenie fibrynogenu - może skutkować prawidłowym formowaniem skrzepu w INTEM lub EXTEM pomimo małopłytkowości</p> |                     |                       |               |

# Podział skaz krwotocznych

- Skazy naczyniowe
- Skazy osoczowe
  - Hemofilie i inne osoczowe skazy wrodzone
  - Zespół rozsianego wykrzepiania śródnaczyniowego (DIC)
  - Nabyte niedobory inhibitorów krzepnięcia
- Skazy płytkowe
  - Małopłytkowości
  - Zaburzenia funkcji płytek

# Skazy osoczowe (koagulopatie)

## □ **Wrodzone:**

- Ch. von Willebranda
- Hemofilia A
- Hemofilia B
- A-, hipo-, dysfibrynogenemia
- Niedobór pojedynczego cz. II, V, VII, X, XI, XII, XIII (występują rzadko)

# Skazy osoczowe nabyte

- Niedobór witaminy K
  - Upośledzenie wytwarzania
  - Upośledzenie wchłaniania
  - Upośledzenie wykorzystania
- Choroby wątroby

# Hemofilia A

- Niedobór czynnika VIII
- Dziedziczenie recesywne, sprzężone z chromosomem X
- Rozpoznanie i różnicowanie
  - Przedłużenie aPTT
  - Prawidłowy czas krwawienia
  - Aktywność cz. VIII
  - Krążący antykoagulant (inhibitor cz. VIII)
- Leczenie

Suplementacja czynnika VIII

# Hemofilia B

- Wrodzony niedobór cz. IX
- Dziedziczenie recesywne, sprzężone z chromosomem X
- Rozpoznanie
  - Wydłużone aPTT
  - Pomiar aktywności cz. IX
- Leczenie
  - Substytucja koncentratami zespołu protrombiny

# Hemofilia C

---

- **wrodzony niedobór cz. XI**
- **Dziedziczenie autosomalne**
- **Przedłużenie czasu krzepnięcia po zranieniach**

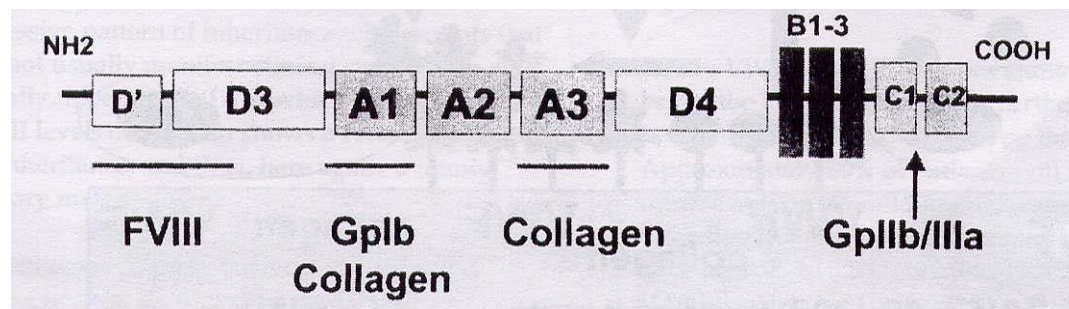
# Objawy hemofilii

| <b>Postać hemofilii</b> | <b>Aktywność cz. VIII w osoczu</b> | <b>Objawy</b>  |
|-------------------------|------------------------------------|--|
| <b>ciężka</b>           | <b>poniżej 1 %</b>                 | <b>częste nawracające krwawienia do stawów (zniekształcenia), do mięśni i narządów wewnętrznych</b>                              |
| <b>umiarkowana</b>      | <b>1 – 5 %</b>                     | <b>krwawienia samoistne (rzadko)<br/>Ciężkie krwawienia po ekstrakcji zębów,<br/>zabiegach chirurgicznych, krwiaki pourazowe</b> |
| <b>łagodna</b>          | <b>5 – 15 %</b>                    | <b>Krwawienia po zabiegach, urazach</b>  |
| <b>subhemofilia</b>     | <b>15 – 30 %</b>                   | <b>bezobjawowo</b>   |



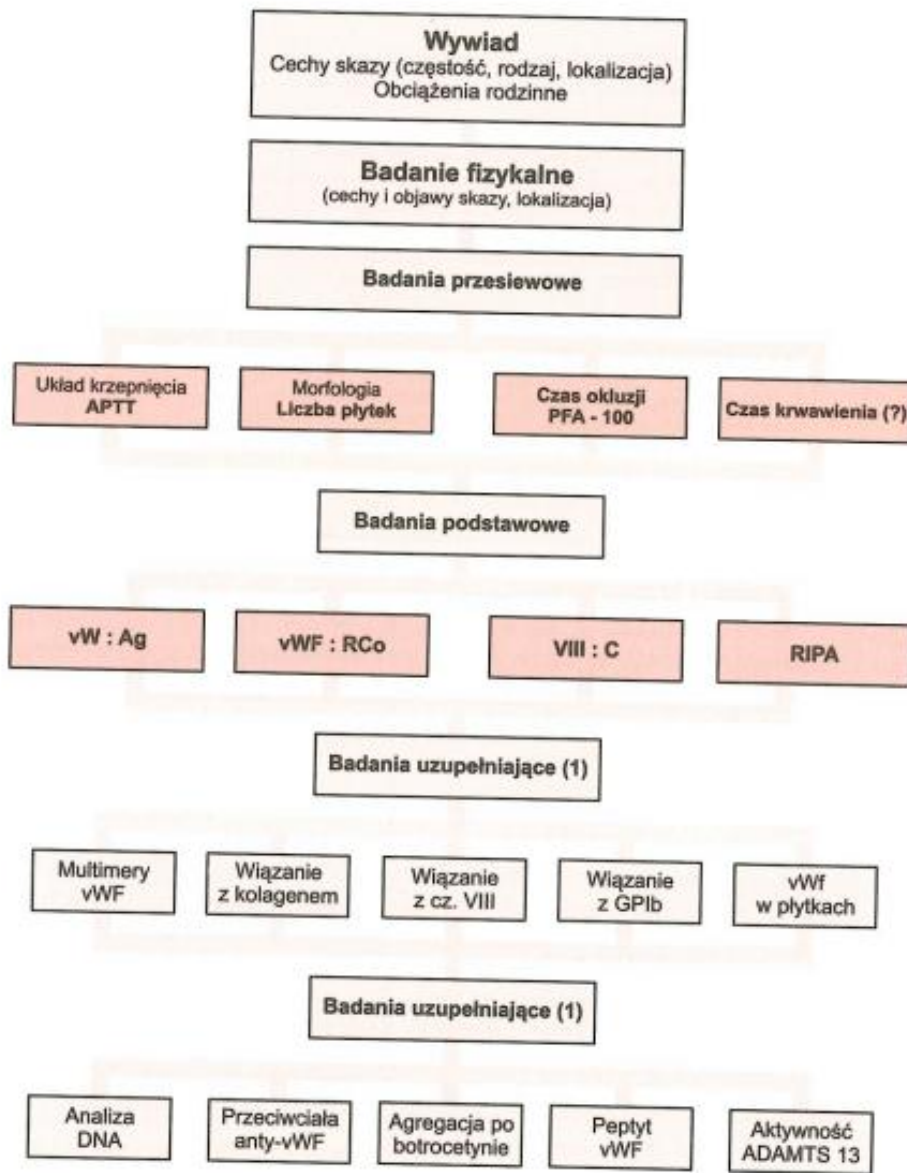
# Choroba von Willebranda

- Pierwsza obserwacja w 1926 r u fińskiej rodziny:
  - częste zgony z powodu wykrwawienia
  - nadmierne krwawienia po drobnych skaleczeniach i zabiegach chirurgicznych
  - u dzieci krwawienia z nosa
  - nadmierne krwawienia miesiączkowe u kobiet
  - łatwe siniaczenie
- Dziedziczenie autosomalne dominujące



# Typy vWD

- ✓ **Typ 1:** częściowy niedobór ilościowy vWF
- ✓ **Typ 2:** niedobory jakościowe
- Typ 3:** całkowity niedobór ilościowy czynnika von Willebranda



Ryc. 4.7. Schemat postępowania w przypadku podejrzenia choroby von Willebranda.

# Skazy płytkowe

- Małopłytkowości (trombocytopenie)
  - Zespół Fanconiegona (zmniejszone wytwarzanie)
  - Nabyte
    - ❖ Wrodzona samoistna autoimmunologiczna plamica małopłytkowa (nadmierne niszczenie)
    - ❖ Nabyte immunologiczne
    - ❖ Nabyte nieimmunologiczne
      - Hipersplenizm
      - ✓ Krwotoki, krążenie pozaustrojowe

# Skazy płytkowe

- Nadpłytkowości
- ❖ Choroby mieloproliferacyjne (pierwotne)
- ❖ choroby zapalne, po splenektomii, po krwotokach, powysiłkowa, w niedoborze żelaza

# Trombocytopatie

## □ Wrodzone

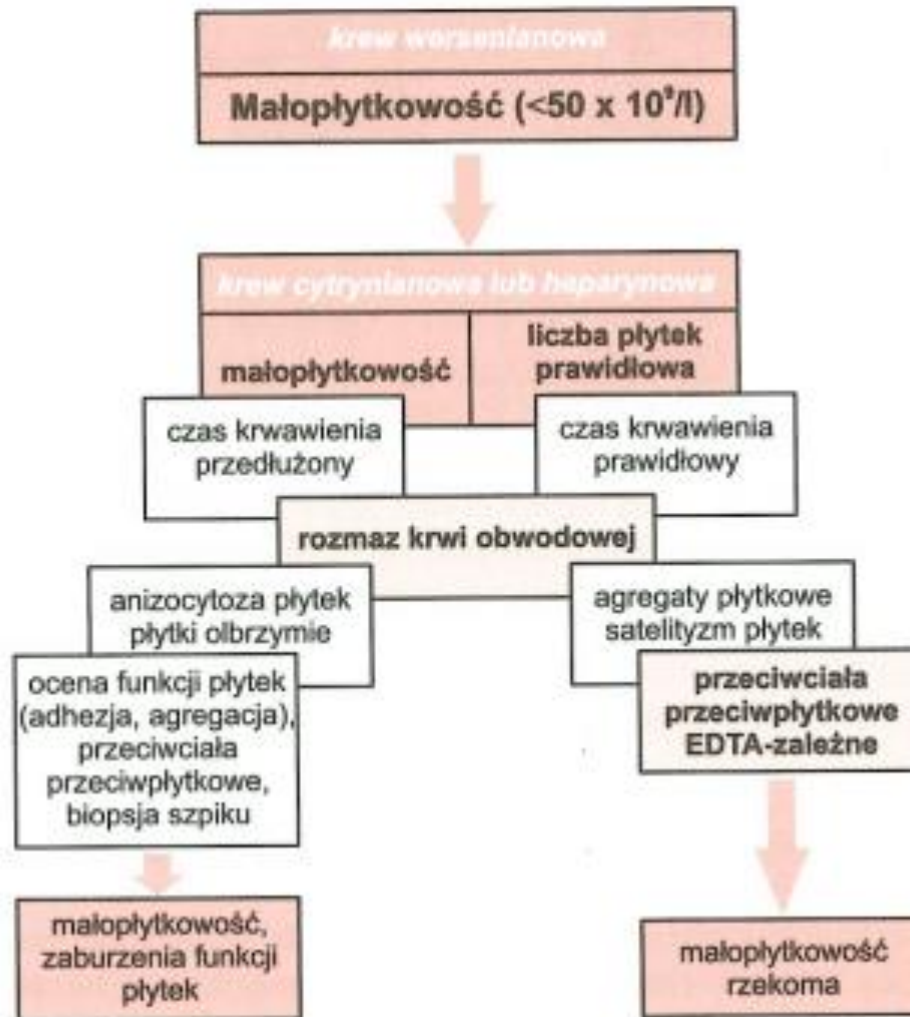
### ❖ Anomalie błony płytkowej

- z. Bernarda-Souliera (*defekt kompleksu GP Ib/IX/V - adhezja*)
- trombostenia Glanzmanna (*defekt kompleksu GP IIb/IIIa - agregacja*)
- defekt receptora kolagenu (*defekt GP Ia/IIa*)
- zespół Scotta (*zaburzenia prokoagulacyjnej czynności płytek*)

### ❖ Zaburzenia sekrecji ziarnistości płytkowych

## □ Nabyte

- Wpływ leków
- DIC
- Choroby wątroby



Ryc. 4.2. Schemat postępowania w przypadkach podejrzenia małopłytkowości rzekomej (PTCP).

# Trombofilie

- **zaburzenia układu hemostazy, które predysponują do powstawania zakrzepów i zatorów**
- Żylna choroba zakrzepowo – zatorową przed 40 – 45 r.ż.,
- Nawracająca zakrzepicę żylną,
- Zakrzepica o rzadkiej lokalizacji (np. zakrzepicę żyły krezkowej, wewnątrzczaszkowych zatok żylnych, żyły wrotnej, żyły śledzionowej),
- Zakrzepica u noworodka o niewyjaśnionych przyczynach,
- Stwierdzoną trombofilię w rodzinie pacjenta,
- Zakrzepicę tętniczą przed 30 r.ż.,
- Niewyjaśnione wydłużenie czasu APTT,
- Liczne niepowodzenia ciąży,
- Plamicę immunotrombocytopeniczną (zespół Moschkowitza),
- SLE (toczeń rumieniowaty układowy);



# Przyczyny trombofilii

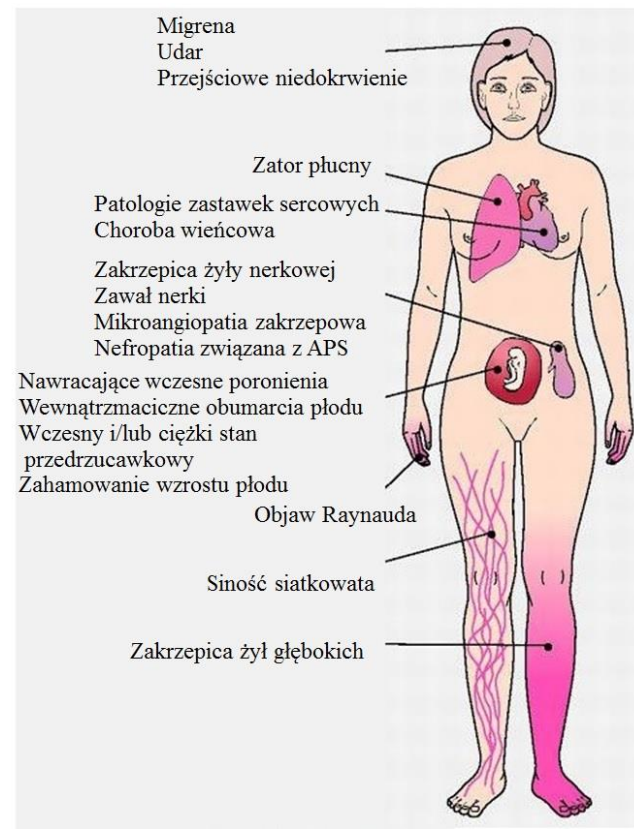
- Niedobór białka C
- Niedobór antytrombiny
- Niedobór białka S
- Oporność na aktywne białko C (cz. V Leiden)
- Nabyte: podeszły wiek, ciąża, otyłość, uraz, terapia estrogenowa, długotrwałe unieruchomienie,

# Zespół antyfosfolipidowy

- **ZESPÓŁ ANTYFOSFOLIPIDOWY (APS) - UKŁADOWA CHOROBA AUTOIMMUNIZACYJNA, Z NAWRACAJĄCĄ ZAKRZEPICĄ (ŻYLNĄ LUB TĘNICZĄ) I/LUB POWIKŁANIAMI POŁOŻNICZYMI Z OBECNOŚCIĄ PRZECIWCIAŁ ANTYFOSFOLIPIDOWYCH.**

- **Antykoagulant tocznia (LAC)**
- **Przeciwciała antykardiolipinowe**
- **Przeciwciała przeciwko  $\beta$ 2-glikoproteinie I**
- **Przeciwciała przeciwko fosfatydyloserynie**
- **Przeciwciała przeciwko fosfatydyloinozytolowi**
- **Przeciwciała przeciwko protrombinie**

PRZECIWCIAŁA ANTYFOSFOLIPIDOWE WYKRYWANE SĄ U 30-40% OSÓB Z TOCZNIEM UKŁADOWYM, JEDNAK JEDYNI 10% Z NICH ROZWIJA APS



# KRYTERIA KLINICZNE

## □ ZAKRZEPICA W NACZYNIACH

- JEDEN LUB WIĘCEJ EPIZODÓW ZAKRZEPICY W OBRĘBIE NACZYŃ TĘTNICZYCH, ŻYLNÝCH ALBO WŁOSOWATYCH W OBRĘBIE JAKIEJKOLWIEK TKANKI LUB NARZĄDU, POTWIERDZONYCH METODAMI DIAGNOSTYKI OBRAZOWEJ, METODĄ DOPPLERA LUB HISTOPATOLOGICZNIE. W OBRAZIE HISTOPATOLOGICZNYM ZMIANOM ZAKRZEPOWYM NIE MOGĄ TOWARZYSZYĆ CECHY ZAPALENIA ŚCIANY NACZYŃ.

## □ NIEPOWODZENIA POŁOŻNICZE:

- JEDEN LUB WIĘCEJ PRZYPADKÓW OBUMARCIA PŁODU MORFOLOGICZNIE PRAWIDŁOWEGO O NIEWYJAŚNIONEJ PRZYCZYNIE W OKRESIE OD 10. TYGODNIA CIĄŻY
- LUB JEDNO LUB WIĘCEJ PRZEDWCZESNYCH URODZEŃ PRAWIDŁOWEGO NOWORODKA PRZED 34. TYGODNIEM CIĄŻY Z POWODU RZUCAWKI, CIĘŻKIEGO STANU PRZEDRZUCAWKOWEGO LUB NIEWYDOLNOŚCI ŁOŻYSKA,
- LUB 3 LUB WIĘCEJ KOLEJNYCH SAMOISTNYCH PORONIEŃ PRZED 10. TYGODNIEM CIĄŻY, GDY WYKLUCZONO ICH PRZYCZYNY ZWIĄZANE ZE ZMIANAMI ANATOMICZNYMI LUB ZABURZENIAMI HORMONALNYMI U MATKI ORAZ CHROMOSOMALNYMI U OBOJGA RODZICÓW.

# KRYTERIA LABORATORYJNE

- **ANTYKOAGULANT TOCZNIOWY (LA)** W SUROWICY, WYKRYTY 2 LUB WIĘCEJ RAZY W ODSTĘPIE 12 TYG. METODAMI USTALONYMI PRZEZ MIĘDZYNARODOWE TOWARZYSTWO ZAKRZEPICY I HEMOSTAZY.
- **PRZECIWCIAŁA ANTYKARDIOLIPINOWE (ACL)** W KLASIE IGG I/LUB IGM OBECNE W SUROWICY LUB OSOCZU W ŚREDNIM LUB WYSOKIM MIANIE (> 40 GPL LUB MPL ALBO > 99. PERCENTYLA) DWUKROTNIEM W ODSTĘPIE 12 TYG, WYKRYTE WYSTANDARYZOWANĄ METODĄ ELISA.
- **PRZECIWCIAŁA PRZECIWKO BETA<sub>2</sub>-GLIKOPROTEINIE (β<sub>2</sub>-GPI)** W KLASIE IGG I/LUB IGM OBECNE W SUROWICY LUB W OSOCZU (W MIANIE > 99. PERCENTYLA) DWUKROTNIEM W ODSTĘPIE 12 TYG, WYKRYTE WYSTANDARYZOWANĄ METODĄ ELISA.

# DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA APS

- W RUTYNOWYCH BADANIACH LABORATORYJNYCH OBSERWOWANE JEST WYDŁUŻENIE APTT
- WYDŁUŻENIE CZASU DRVVT (CZAS KRZEPNIĘCIA ROZCIEŃCZONEGO OSOCZA W OBECNOŚCI JADU ŻMIJI RUSSELA)
- **WAŻNE!! STOSOWAĆ OSOCZE UBOGOPŁYTKOWE DWUKROTNIE WIROWANE**
- TEST KOREKCJI APTT UJEMNY
- CZAS KRZEPNIĘCIA ROZCIEŃCZONEGO OSOCZA W OBECNOŚCI JADU ŻMIJI RUSSELA JEST NIEZALEŻNY OD NIEDOBORÓW CZ. DROGI WEWNĄTRZPOCHODNEJ I ICH INHIBITORÓW
- TEST POTWIERDZENIA – BADANIE Z NADMIAREM FOSFOLIPIDÓW, NEUTRALIZUJĄCYCH APL
- U CHORYCH Z OBECNYM CZYNNIKIEM REUMATOIDALNYM LUB OBECNOŚCIĄ KRIOGLOBULIN MOŻEMY UZYSKAĆ FAŁSZYWIE POZYTYWNE WYNIKI NA OBECNOŚĆ ACL W KLASIE IGM.

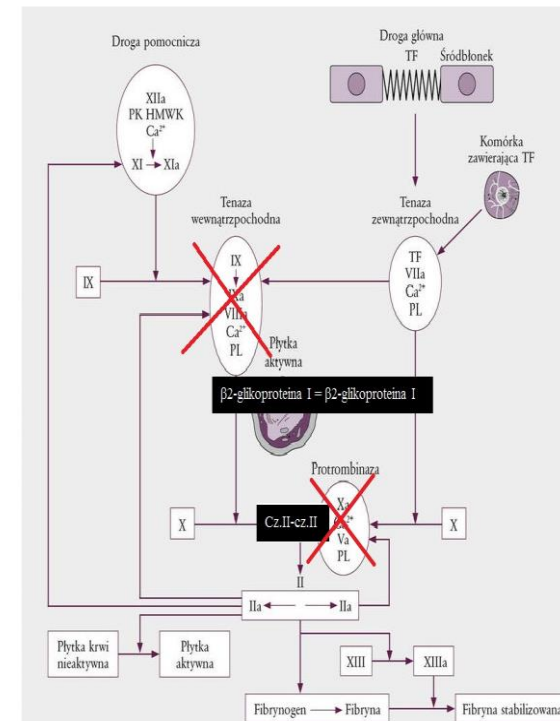


Tabela 4.8 Badania laboratoryjne w skłonności do zakrzepów.

| Rodzaje zaburzeń       | Wyniki badań podstawowych |         |         |         | Badania uzupełniające  |
|------------------------|---------------------------|---------|---------|---------|--|
|                        | PT                        | APTT    | TT      | PLT     |  |
| Nabyte                 | W lub N                   | W lub N | W lub N | W lub N | Fibrynogen, cz. VIII, inhibitory agregacji płytek<br>Badania fibrynolizy (DD)<br>Inne - odpowiednio do schorzenia  |
| Wrodzone (trombofilia) | N                         | N       | N       | N       | Białko C i S, AT, APC-R, cz. VIII, vW, IX, XI, XII, mutacja typu Leiden (V), inhibitory/aktywatory fibrynolizy, plazminogen<br>Inne - patrz tekst i rycina |
| Krążące antykoagulanty | W lub N                   | W       | N       | N       | Przeciwciała-inhibitory białek-fosfolipidów układu krzepnięcia   |
| Dysfibrynogenemie      | N                         | N       | W       | N       | Fibrynogen   |
| Przewlekły DIC         | W                         | W       | W       | O lub N | FDP, DD, inhibitory (AT, białko C), hiperreaktywność płytek (βTG, PF4)<br>Inne - patrz tekst i tabela  |

Objaśnienia skrótów: PT – czas protrombinowy, APTT – czas częściowej trombolastyny po aktywacji, TT – czas trombinowy, PLT- liczba płytek, W – wzrost, N – norma, O – obniżenie

## ALGORYTM POSTĘPOWANIA PRZY PODEJRZENIU TROMBOFILII

### Badanie podmiotowe:

- Wiek < 40 roku życia
- Incydenty zakrzepowo-zatorowe, miażdżyca, choroby wątroby, choroby układu krwiotwórczego

### Badanie przedmiotowe:

- Objawy zakrzepicy żył głębokich
- Objawy zatoru naczyniowego
- Zapalenie żył powierzchniowych

### Diagnostyka:

- Obrazowa
- Badania laboratoryjne
  - Przesiewowe
  - Specjalistyczne

### Badania przesiewowe

#### Morfologia krwi obwodowej:

- Nadpłytkowość
- Czerwieńnica

#### Transaminazy

- Choroby wątroby

#### Profil lipidowy, homocysteina

- Miażdżyca

#### Układ krzepnięcia (APTT, PT, TT, fibrynogen)

- Brak zaburzeń lub przedłużenie APTT wskazuje na konieczność wykonania dalszych badań specjalistycznych

Ryc. 4.9

#### Podstawowy profil badań specjalistycznych

- Antytrombina
- Białko C
- Białko S (wolne, całkowite, aktywne)
- Odporność na aktywne białko C (APC-R)
- Czynniki VIII i czynnik von Willebranda (vW)
- Antykoagulant tuczni (LA) (przy przedłużonym APTT)
  - przeciwciała antyfosfolipidowe
  - przeciwciała antykardiolipinowe

#### Rozszerzony profil badań specjalistycznych

- Badania układu fibrynolizy
  - Plazminogen
  - PAI-1
  - t-PA
  - $\alpha_2$ -antyplazmina
- Kofaktor II heparyny
- Czynniki XII
- Czynniki II

#### Uzupełniające badania specjalistyczne

- Czynniki IX, XI
- TAFI (inhibitor fibrynolizy aktywowany trombiną)
- Trombomodulina
- TFPI (inhibitor układu aktywacji tkankowej)

#### Badania genetyczne

- Mutacja genu protrombiny (20210 G-A)
- Mutacja genu czynnika V Leiden (1691 G-A)
- Mutacja reduktazy metylotetrahydrofolanu MTHFR (677 C-T)

### Badania specjalistyczne

# DIC

- Wewnątrznaczyniowa układowa aktywacja krzepnięcia z **tworzeniem rozsianych mikrozakrzepów w końcowych odcinkach łożyska naczyniowego**
- koagulopatia ze zużycia
- wtórna (odczynowa) hiperfibrynoliza
- Mechanizmy:
  - Rozsiane uszkodzenie śródbłónka
  - Aktywacja płytek monocytów i makrofagów,
  - Uwolnienie TF
  - Uszkodzenie płytek i erytrocytów , uwolnienie czynników trombogennych
  - Zwolnienie przepływu krwi
  - Obce powierzchnie krążenie pozaustrojowe
  - Zaburzenie mikrokrążenia (wstrząs)



# DIC – Stany kliniczne

- ❑ Zator wodami płodowymi TK
- ❑ Przedwczesne odklejenie łożyska
- ❑ Martwy płód (aktywacja krzepnięcia poprzez martwicze tkanki)
- ❑ Poronienie septyczne
- ❑ Operacje na narządach bogatych w trombokinazę
- ❑ Urazy oparzenia – mikrohemoliza uwalnianie ADP
- ❑ hemoliza przetoczeniowa uwolnienie ADP z erytrocytów
- ❑ jad węży
- ❑ rozpad guza nowotworzeie naczyń, tkanki martwicze, enzymy proteolityczne, odrzucenie przeszczepu
- ❑ ostra białaczka promielocytowa uwalnianie z promielocytów elastazy, katepsyny adenocarcinoma rak prostaty, trzustki, piersi
- ❑ choroby naczyniowe tętniaki, zapalenie naczyń, protezy naczyniowe
- ❑ homozygotyczny niedobór białka C, S
- ❑ niewydolność wątroby

# DIC - diagnostyka

- FDP
- Peptyd B Beta 15-42 obecność tego peptydu świadczy o jednoczesnej układowej aktywacji trombiny i plazminy
- płytki krwi  $\Downarrow < 100\ 000$  w  $\text{mm}^3$ , nagły spadek o 100 000 w ciągu 24 godz.
- W rozmazach krwi schistocyty, leukocytoza, małopłytkowość
- APTT  $\Uparrow$
- Czas protrombinowy  $\Uparrow$
- Czas trombinowy  $\Uparrow$
- AT spadek aktywności  $\Downarrow$
- Fibrynogen  $\Downarrow < 1,0$  g/l (  $< 100$  mg%)
- **PRAWIDŁOWE APTT PT i TT NIE WYKLUCZAJĄ ISTNIENIA DIC**

Tabela 4.7. Różnicowanie ostrej i podostrej/ przewlekłej postaci DIC.

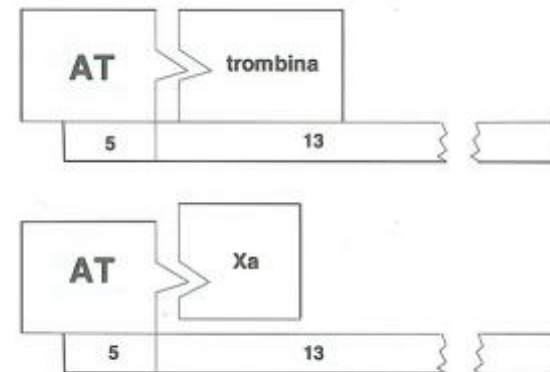
| Badania       |   | DIC ostry<br>(niewyrównany) | DIC przewlekły<br>lub podostry<br>(wyrównany) |
|---------------|---|-----------------------------|---|
| Podstawowe    | Fibrynogen  | O/ZO                        | O lub N                                       |
|               | Płytki  | O/ZO                        | O   |
|               | Czas protrombinowy (PT)                               | Przedłużony                 | Przedłużony lub N                             |
|               | Czas częściowej tromboplastyny<br>po aktywacji (APTT) | Przedłużony                 | Przedłużony lub N                             |
|               | Dimer D   | ZW                          | W   |
|               | Antytrombina (AT)                                     | O lub ZO                    | O lub N                                       |
|               | Białko C  | O lub ZO                    | N   |
|               | Czas trombinowy (TT)                                  | Przedłużony                 | Przedłużony lub N                             |
| Uzupełniające | Monomery fibryny                                      | ZW                          | W   |
|               | Czynnik VIIa  | O                           | O lub N                                       |
|               | Czynnik VIII oraz vW                                  | O lub W                     | O lub W                                       |
|               | F1+2  | O lub N                     | O lub N                                       |
|               | TAT   | W                           | W lub N                                       |
|               | PAP   | W                           | W lub N                                       |
|               | Plazminogen   | O                           | O lub N                                       |
|               | tPA/PAI (kompleks)                                    | W                           | W lub N                                       |
|               | Rozmaz krwi obwodowej<br>- schistocyty                | Obecne                      | Obecne/brak                                   |

Objaśnienia skrótów: O – obniżony, ZO – znacznie obniżony, N – norma, W – wzrost, ZW – znaczny wzrost

# Monitorowanie leczenia heparyną

- Heparyna niefrakcjonowana przyspiesza inhibitorowe działanie AT w stosunku do trombiny (1000 x), a czynnika X – 4000x. Kompleks AT III – heparyna inaktywuje także czynniki IXa, XIa, XIIa i czynnik VIIa w kompleksie z czynnikiem tkankowym (VIIa – TF). Heparyna może także blokować trombinę (wiążanie z kofaktorem II heparyny).

- Im wyższe wysycenie,
- tym wolniejsza eliminacja



- Heparyna stymuluje uwolnienie t-PA z śródbłonna, zapobiega wiązaniu się trombiny ze ścianą naczyń, wiąże się z vWF i wpływa na agregację płytek

# Monitorowanie leczenia heparyną

- Przy wlewie ciągłym pierwsze oznaczenie APTT po 6 godzinach od bolusa, w celu określenia szybkości wlewu. Potem 1 raz dziennie
- Przy wstrzyknięciach – codziennie na godzinę przed zastrzykiem lub 4-5 godzin po.

## **U chorych leczonych dożylnie heparyną niefrakcjonowaną:**

APTT powinien być 1,5-2,5 razy dłuższy od wartości wyjściowych

**Podczas leczenia heparyną obowiązuje kontrola liczby płytek krwi** (kompleks heparyny z PF4 stymuluje powstawanie p-ciał przeciwplatekcyjnych)

# Monitorowanie leczenia doustnymi antykoagulantami

- Antykoagulanty doustne, pochodne dihydroksykumaryny i fenylinadionu, hamują działanie witaminy K, która jest niezbędna w procesie potranslacyjnej karboksylacji reszt kwasu glutaminowego w cząsteczce protrombiny (czynnik II) i czynników krzepnięcia VII, IX, X, a także białka C i białka S.
- Prozakrzepowe działanie – hamowanie białek C i S
- Zakres terapeutyczny **INR 2– 3,5**
- Wartości INR przy sztucznych zastawkach **3-3,5**
- Skaza krwotoczna **> 4,5**

# Monitorowanie leczenia doustnymi antykoagulantami – ocena INR

- Przed włączeniem leczenia
- co 24 godziny aż do osiągnięcia pożądanego poziomu antykoagulacji
- następnie 2 razy w tygodniu przez 2 tygodnie
- Raz w tygodniu przez kolejny miesiąc leczenia
- Długoterminowo 1-2 razy w miesiącu
  
- Brak wydłużenia INR może być spowodowany hemolizą, lipemią, lekami, przy diecie bogatej w witaminę K, w oporności na doustne antykoagulanty

# Doustne antykoagulanty – inhibitory selektywne

Tabela I. Porównanie działania bezpośrednich inhibitorów czynnika X i trombiny – rywaroksabanu, apiksabanu i dabigatranu i (zmodyfikowane wg. 6).

| Działanie antykoagulacyjne   | <b>Rywaroksaban</b><br>Bezpośrednie, kompetycyjne i odwracalne na Xa                    | <b>Apiksaban</b><br>Bezpośrednie, kompetycyjne i odwracalne na Xa | <b>Dabigatran</b><br>Bezpośrednie, kompetycyjne i odwracalne na IIa |
|--|---|---|---|
| Biodostępność  | 80%   | 60-70%  | 6 -7%   |
| Początek działania   | po 30 minutach<br>(T <sub>max</sub> 2-4 godz.)  | po 30 min<br>(T <sub>max</sub> 3-4 godz.)                         | po 30 minutach<br>(T <sub>max</sub> 0,5-3 godz.)                    |
| Czas działania   | 24 godz.  | 24 godz.  | 24-36 godz.   |
| Czas połowicznej eliminacji (T1/2)   | 5-9 godz. młodzi dorośli<br>11-13 godz. osoby starsze                                   | ok. 8-15 godz.  | 7-9 godz. młodzi dorośli<br>12-17 godz. osoby starsze               |
| Droga eliminacji   | Nerkowa (mocz) 33% + 33% –<br>formy zmienione/niezmienione<br>Wątrobowa (żółć, kał) 34% | Nerkowa (mocz) 25%,<br>Wątrobowa (kał) 75%                        | Nerkowa (mocz) 80%, wątrobowa<br>(żółć, kał) 20%                    |
| Metabolizm z udziałem cytochromu C   | Tak   | Tak   | Nie   |
| Interakcja z lekami:   | Tak:<br>inhibitory/ induktory<br>CYP3A4, glikoproteiny-P                                | Tak:<br>inhibitory/ induktory<br>CYP3A4, glikoproteiny-P          | Tak:<br>inhibitory/ induktory<br>glikoproteiny-P                    |
| Interakcja z dietą i alkoholem   |   | Niewielka lub nie występuje                                       |   |
| Dawkowanie   |   | Stałe   |   |
| Monitorowanie leczenia   | Nie wymaga monitorowania w warunkach standardowych*                                     |   |   |
| Zastosowanie w ciąży i laktacji  |   | Przeciwwskazane   |   |
| Zastosowanie w ciężkich chorobach nerek lub wątroby  |   | Ostrożne lub przeciwwskazane*                                     |   |
| Powrót do normy po odstawieniu leku (zależnie od stężenia w osoczu i czasu połowicznej eliminacji) | ok. 24 godz.  | ok. 24 godz.  | ok. 24 -36 godz.  |
| Antidotum  |   | W trakcie prób klinicznych*                                       |   |



# Doustne antykoagulanty

Tabela III. Wpływ BDA na wyniki podstawowych i specjalistycznych badań układu krzepnięcia

| Oznaczenie  | Inhibitory trombiny          | Inhibitory cz. Xa            |
|---|------------------------------|------------------------------|
| APTT  | ↑↑                           | ↑                            |
| PT/INR  | ↑                            | ↑↑                           |
| TT  | ↑↑↑                          | bz                           |
| Fibrynogen (metoda Claussa)                           | bz lub ↓                     | bz                           |
| Oznaczenie czynników w oparciu o APTT                 | ↓ czynników VIII, IX, XI     | ↓ czynników VIII, IX, XI     |
| Oznaczenie czynników w oparciu o PT                   | ↓ II, V, VII, X              | ↓ II, V, VII, X              |
| AT (Xa)   | bz                           | ↑                            |
| AT (IIa)  | ↑                            | bz                           |
| Białko C:   |                              |                              |
| - metoda wykrzepialna                                 | ↑                            | ↑                            |
| - metoda chromogenna                                  | bz                           | bz                           |
| Białko S:   |                              |                              |
| - metoda wykrzepialna                                 | ↑                            | ↑                            |
| - metoda ELISA  | bz                           | bz                           |
| - antygen wolnego białka S                            | bz                           | bz                           |
| APCR (w oparciu o APTT, osocze pozbawione czynnika V) | Fałszywie zawyżony           | Fałszywie zawyżony           |
| Czynnik VIII – aktywność metoda chromogenna           | bz                           | ↓                            |
| Próby korekcyjne (w oparciu o APTT/ PT)               | Niepełna korekcja            | Niepełna korekcja            |
| Oznaczenie LA   | Błędna interpretacja jako LA | Błędna interpretacja jako LA |

Objaśnienie skrótów: APTT – czas częściowej tromboplastyny po aktywacji, APCR – oporność na aktywne białko C, AT – antytrombina, LA – antykoagulant tocznia,

# Doustne antykoagulanty – monitorowanie leczenia

Tabela II. Główne wskazania do laboratoryjnego monitorowania leczenia BDA

| Wskazania obligatoryjne                               | Wskazania zalecane  |
|---|---|
| Incydenty krwotoczne lub zakrzepowe                   | Pacjenci z niedowagą/nadwagą  |
| Kontrola przedoperacyjna u pacjenta przyjmującego BDA | Ocena efektywności stosowanej terapii                                   |
| Podjęzienie przedawkowania lub zatrucia               | Dodatkowe leczenie inhibitorami lub aktywatorami glikoproteiny P (P-gp) |
| Ostra niewydolność nerek                              | Przewlekła niewydolność nerek   |
| Ostre uszkodzenie wątroby                             | Przewlekła niewydolność wątroby   |

- Oznaczanie funkcji nerek
- Ocena eGFR wg Cocrofta-Gaulta
- Ocena klirensu kreatyniny 2-3x na rok