

Ιστορικό και εργαστηριακή διερεύνηση αιμορραγικού ασθενούς

Αθηνά Μούγιου

Διευθύντρια Κέντρου Αίματος ΠΓΝΠ

05-03-2021

Αιμόσταση

- **Φυσιολογικός ομοιοστατικός μηχανισμός**, που περιλαμβάνει ένα σύνολο πολύπλοκων βιοχημικών αντιδράσεων και μηχανισμών κυτταρικής αλληλεπίδρασης με στόχο την αποκατάσταση της συνέχειας του τραυματισμένου αγγείου και την επίσχεση της αιμορραγίας αλλά και την ομαλή ροή του αίματος σε αυτό, για την αποτροπή της θρόμβωσης
- Για περιγραφικούς λόγους συνοψίζεται σε τρία στάδια:
 1. **Πρωτογενής αιμόσταση**
 2. **Δευτερογενής αιμόσταση ή πήξη**
 3. **Ινωδόλυση**

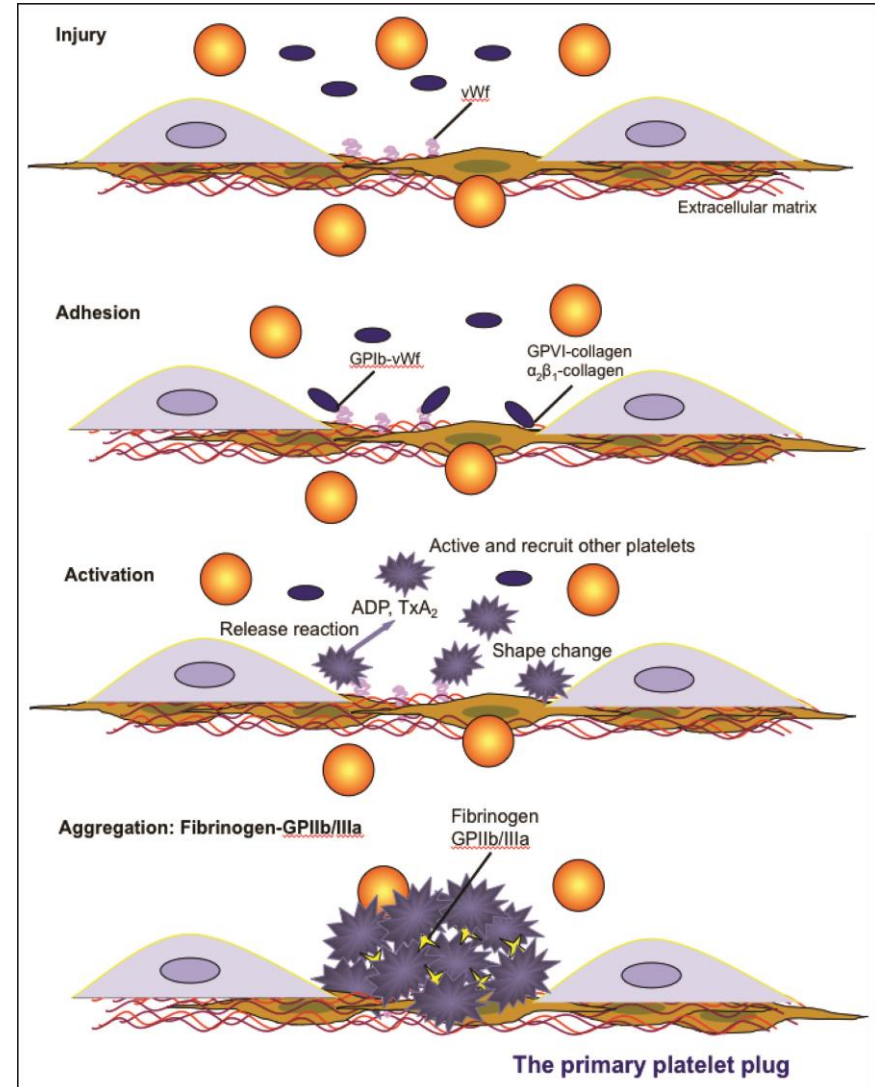
Πρωτογενής αιμόσταση

- Ο τραυματισμός του αγγείου προκαλεί την άμεση συστολή του μέσω διαβιβαστών (σεροτονίνη, επινεφρίνη, νοραδρεναλίνη), με στόχο τη μείωση της απώλειας αίματος και την ταχύτερη ενεργοποίηση της πρωτογενούς αιμόστασης
- Το τραυματισμένο αγγείο συσπάται για να προκαλέσει, μέσα σε λίγα λεπτά, τη δημιουργία του ασταθούς πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου (λευκού θρόμβου)

Στάδια πρωτογενούς αιμόστασης

1. **Προσκόλληση** των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ) στο υπενδοθήλιο (adhesion)
2. **Αντίδραση απελευθέρωσης** κοκκίων από τα αιμοπετάλια (activation)
3. **Συσώρευση** των ΑΜΠ για τη δημιουργία θρόμβου (aggregation)

❖ Η προσκόλληση των ΑΜΠ στο ενδοθήλιο του τραυματισμένου αγγείου επιτυγχάνεται μέσω του παράγοντα von Willebrand (vWF) που συνδέεται με το κολλαγόνο του υπενδοθηλίου και στη συνέχεια με τον υποδοχέα της γλυκοπρωτεΐνης Ib (GPIb) που βρίσκεται στην επιφάνεια των ΑΜΠ



Δευτερογενής αιμόσταση ή πήξη

- Περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός πλέγματος ινώδους που σταθεροποιεί το θρόμβο με την ενεργοποίηση παραγόντων πήξης, κυττάρων και ανασταλτών της πήξης
- Οι αντιδράσεις αλληλο-ρυθμίζονται με μηχανισμούς θετικής ή αρνητικής ανάδρασης
- Για περιγραφικούς και μόνο λόγους η ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης αναλύεται μέσω της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού
- **Η ενδογενής οδός της πήξης** πυροδοτείται με ενεργοποίηση του παράγοντα XII (σύστημα επαφής), επάνω στην αλλοιωμένη αγγειακή επιφάνεια (στο ενδοθήλιο και στην υπενδοθηλιακή στιβάδα)
- **Η εξωγενής οδός** ενεργοποιείται, όταν ο ιστικός παράγοντας (tissue factor, TF) εκτίθεται στην κυκλοφορία. Ο TF είναι μία γλυκοπρωτεΐνη, η οποία εκφράζεται σε διάφορα είδη κυττάρων και κυρίως τα ενδοθηλιακά

Παράγοντες πήξης

FI: Ινωδογόνο

FII: Προθρομβίνη

FIII: Ιστικός παράγων (tissue factor, TF)

FIV: Ασβέστιο

FV: Προαξελερίνη

FVII: Προκομβερτίνη

FVIII: Αντι-αιμορροφιλική σφαιρίνη A

FIX: Αντι-αιμορροφιλική σφαιρίνη B

FX: Παράγων Stuart Prower

FXI: Πρόδρομος θρομβοπλαστίνης

FXII: Παράγων επαφής (Hageman)

FXIII: Σταθεροποιητής του ινώδους

Ο μηχανισμός πήξης χρησιμοποιεί δύο οδούς, την ενδογενή και την εξωγενή, για την ενεργοποίηση του X.

Γιατί;

ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ

ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΕΠΑΦΗΣ

↓ ΚΑΛΛΙΚΡΕΪΝΗ
XII → XIIa

↓
XI → XIa

↓ Ca⁺⁺
IX → IXa

↓
VIII → VIIIa

↓ +PF3
+Ca⁺⁺

X → Xa

↓ +PF3
+Ca⁺⁺

V → Va

↓
(προθρομβίνη) FII → FIIa (θρομβίνη)

↓
Ινωδογόνο I → μονομερή ινώδους +
↓ ινωδοπεπτίδια A + B
πολυμερή ινώδους
↓ Ca⁺⁺ ← XIIIa
αδιάλυτο ινώδες

ΕΞΩΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ

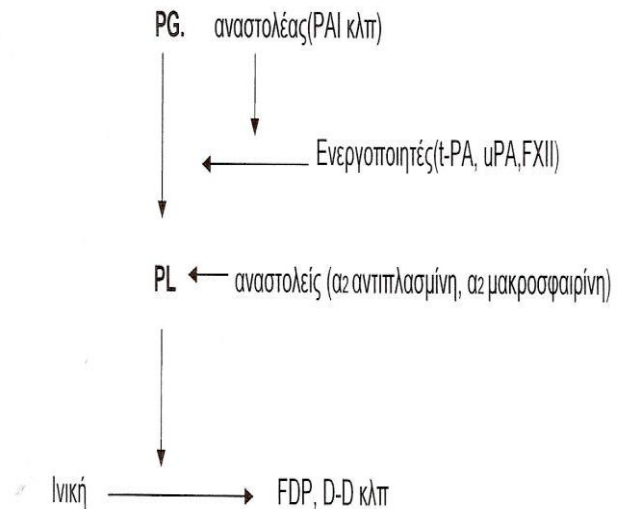
ΙΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΩΝ

+
VIIa + Ca⁺⁺

- Η εξωγενής οδός ενεργοποιείται γρηγορότερα από την ενδογενή και οδηγεί στην παραγωγή θρομβίνης και ινωδογόνου μέσω του VIIa που ενεργοποιεί τον X
- Με τον τρόπο αυτό, η παραγόμενη θρομβίνη ενεργοποιεί άμεσα το ινωδογόνο και σταθεροποιεί πρώιμα τον ασταθή αιμοπεταλιακό θρόμβο

Ινωδόλυση: Αλληλουχία αντιδράσεων που στοχεύει στη λύση του θρόμβου ινικής

- Αργό φαινόμενο που συμβαίνει με τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη, η οποία διασπά την ινική σε διαλυτά προϊόντα και την απομακρύνει από τα αγγεία
- Το ινωδολυτικό σύστημα αποτελείται από το πλασμινογόνο και την πλασμίνη, καθώς και τους διάφορους ενεργοποιητές και αναστολείς του συστήματος



Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού της ινωδόλυσης.

Αιμορραγικές διαταραχές αιμόστασης: στην κλινική πράξη γίνεται χρήση συγκεκριμένης ορολογίας

- **Αιμορραγική διάθεση** είναι η αποτυχία των φυσιολογικών μηχανισμών της αιμόστασης να ελέγξουν την αιμορραγία. Συνήθως επίκτητη, σπάνια κληρονομική
- **Αιμορροφιλία** είναι η κληρονομική αιμορραγική προδιάθεση. Σπανιότατα επίκτητη

Αιμορραγικό ιστορικό

- Αιμορραγική διάθεση: εύκολη, αυτόματη ή προκλητή;
- Ποια είναι η ηλικία έναρξης σύμφωνα με το ατομικό ιστορικό;
- Εκχυμώσεις, πετέχειες, αιμορραγία από τους βλεννογόνους (ρινορραγία, ουλορραγία);
- Ασυνήθιστη παράταση αιμορραγίας μετά από τραύμα, χειρουργική επέμβαση ή εξαγωγή δοντιού;
- Παρατεταμένη και βαριά μηνορραγία ή σοβαρή, επαναλαμβανόμενη επίσταξη;
- Αιμορραγία μαλακών μορίων ή αρθρώσεων: Υπάρχει ιστορικό ασυνήθιστων αιματωμάτων ή ανεξήγητη «αρθρίτιδα» με οίδημα στην οικογένεια;
- Ιστορικό αιμορραγίας πεπτικού, αιματοουρίας, αιμόπτυσης;
- Συνοδά νοσήματα, φάρμακα, συνήθειες;
- Υπάρχει ιστορικό μεταγγίσεων με αίμα και παράγωγα;
- Υπάρχει ιστορικό εγκεφαλικής αιμορραγίας;
- Έχει κάποιος εξ αίματος συγγενής θετικό αιμορραγικό ιστορικό;

Αιμορραγικό εξάνθημα: πετέχειες



Αιμορραγικό ενάνθημα



Εκχυμώσεις (υποδόρια αιματώματα)



Αίμαρθρα



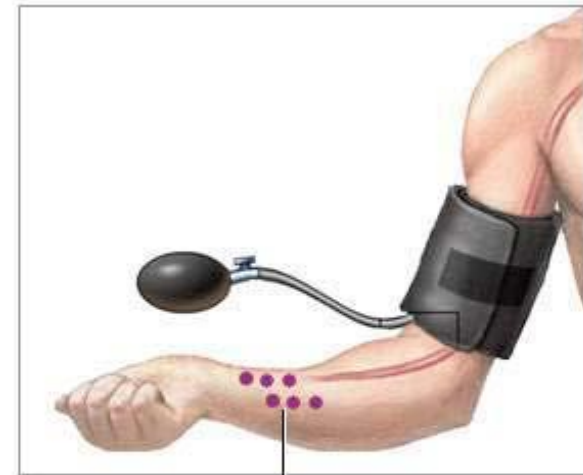
Εργαστηριακή διερεύνηση θετικού αιμορραγικού ιστορικού

- Διερεύνηση πρωτογενούς αιμόστασης
 - ✓ χρόνος ροής
 - ✓ αριθμός και λειτουργικότητα αιμοπεταλίων
 - ✓ μέτρηση παράγοντα von Willebrand
- Διερεύνηση δευτερογενούς αιμόστασης
 - ✓ Ανιχνευτικές εξετάσεις πήξης (PT, aPTT, Ινωδογόνο)
 - ✓ Μέτρηση μεμονωμένων παραγόντων (vWF, FVIII, FIX...)
- Διερεύνηση ινωδολυτικού συστήματος (DDs, FDPs)

Έλεγχος πρωτογενούς αιμόστασης Χρόνος ροής

Μέθοδος Ivy:

- τραυματισμός πρόσθιας επιφάνειας αντιβραχίου (1cm) αφού έχει εφαρμοστεί στην περιχειρίδα σφυγμομανόμετρο, πίεση 4 εκατοστών στήλης υδραργύρου
- αφαίρεση της σταγόνας αίματος κατά τακτά διαστήματα με διηθητικό χαρτί και χρονομέτρηση (φ.τ.: 3-5')



Two incisions are made
and the time for clotting
to occur is recorded

ADAM.

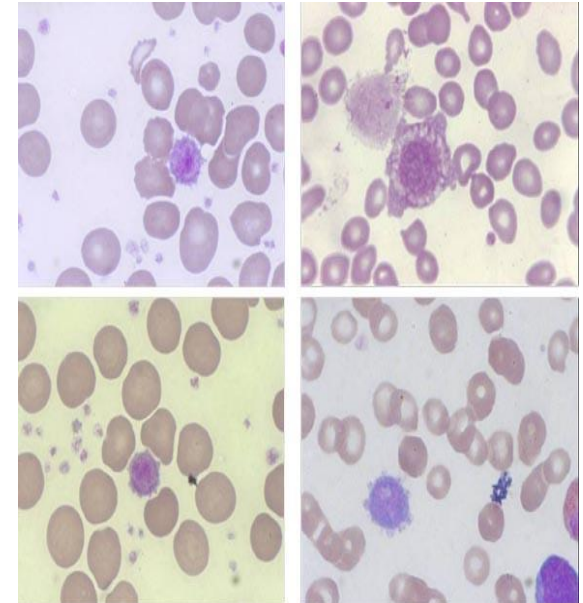
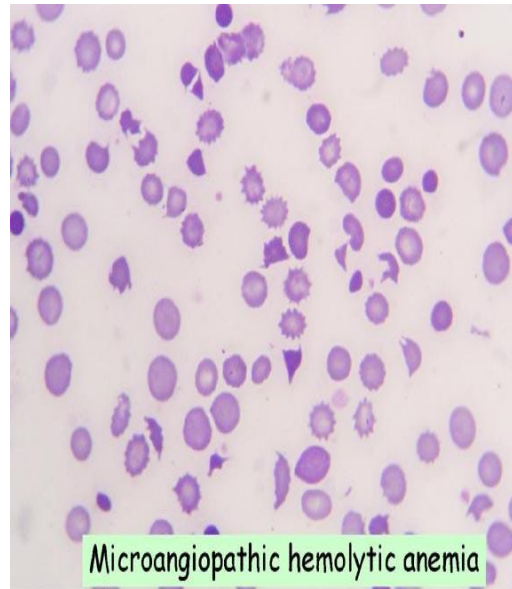
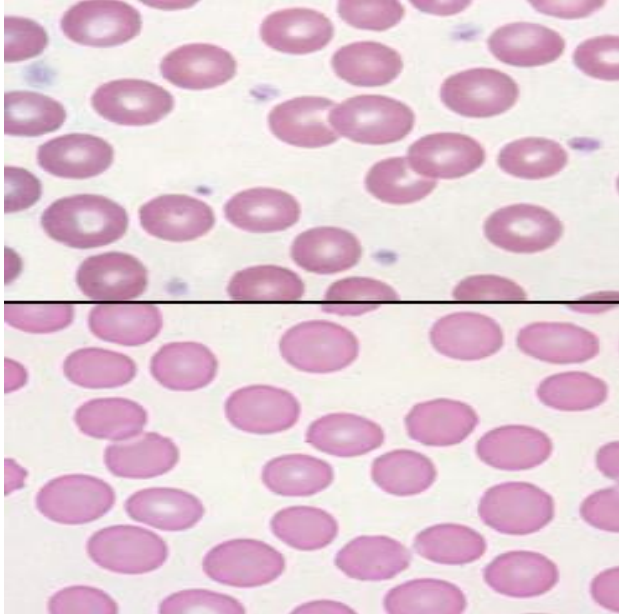
Αυξάνεται σε:

- ❖ Ποιοτικές και ποσοτικές διαταραχές αιμοπεταλίων
- ❖ Διαταραχή πρωτεϊνών πλάσματος που συμμετέχουν στην πρωτογενή αιμόσταση (vWF)
- ❖ Παθολογικό αγγειακό υπενδοθηλίο (πορφύρα Henoch-Schönlein, Ehlers-Danlos)

Έλεγχος πρωτογενούς αιμόστασης

Αριθμός και λειτουργία αιμοπεταλίων

- Μέτρηση των αιμοπεταλίων σε αυτόματο αναλυτή
- Μέτρηση και μελέτη μεγέθους αιμοπεταλίων στο επίχρισμα του περιφερικού
- Φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων δεν αποκλείει ποιοτικές διαταραχές αυτών



Έλεγχος εξωγενούς (και κοινής) οδού της πήξης: Χρόνος προθρομβίνης (prothrombin time, PT)

Μέθοδος

- Ο χρόνος που απαιτείται για να δημιουργηθεί πήγμα στο πλάσμα ασθενούς μετά από προσθήκη ιστικής θρομβοπλαστίνης και ιόντων ασβεστίου
- Η δοκιμασία ελέγχει τον FVII και τους παράγοντες της κοινής οδού: II, V και X
- **φ.τ.: 12-13 sec**

Παράταση χρόνου σε:

- Έλλειψη παράγοντα VII ή ύπαρξη ανασταλτή του
- Λήψη κουμαρινικών αντιπηκτικών (θα υπάρχει και μικρή παράταση του aPTT)
- Έλλειψη παράγοντα της κοινής οδού (II, V, X) (θα υπάρχει και παράταση του aPTT)
- Έλλειψη Βιταμίνης K (βιταμινο K εξαρτώμενοι παράγοντες: II, VII, IX, X, πρώτος επηρεάζεται ο FVII)

Έλεγχος ενδογενούς (και κοινής) οδού της πήξης: Χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (activated partial thromboplastin time, aPTT)

Μέθοδος

- Πρόκειται για ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξης σε σωληνάριο αίματος με αντιπηκτική ουσία τα κιτρικά, με προσθήκη στο πλάσμα του ασθενούς καολίνης, ασβεστίου και φωσφολιπιδίων και μέτρηση του χρόνου που απαιτείται για να δημιουργηθεί πήγμα
- Η χρόνος μετριέται σε δευτερόλεπτα (φ.τ.: 24-34 sec)
- Με τη δοκιμασία ελέγχονται οι παράγοντες VIII, IX, XI, XII και οι παράγοντες της κοινής οδού II, V, X

Παράταση χρόνου σε:

- Σε έλλειψη των παραγόντων της ενδογενούς οδού
 1. Έλλειψη παράγοντα VIII (αιμορροφιλία A ή νόσος von Willebrand)
 2. Έλλειψη παράγοντα IX (Αιμορροφιλία B)
 3. Έλλειψη παράγοντα XI (Αιμορροφιλία C)
- Σε μεγάλη έλλειψη παραγόντων της κοινής οδού (II, V, X) (π.χ. ΔΕΠ)
- Σε ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι του παράγοντα VIII
- Σε λήψη κλασικής ηπαρίνης

Μέτρηση και διαταραχές ινωδογόνου

- **Μέτρηση ινωδογόνου κατά Clauss:** πραγματοποιείται μετά από αραίωση του πλάσματος του ασθενούς και στη συνέχεια προσθήκη πυκνού διαλύματος θρομβίνης
- **φ.τ.:** 200 - 400 mg/dL
- **Αύξηση ινωδογόνου:** οξεία και χρόνια φλεγμονή, κακοήθεια, κύηση, προθρομβωτικές καταστάσεις
- **Μείωση ινωδογόνου**
 - ✓ κληρονομική
 - ✓ επίκτητη (διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη, βαριά ηπατική ανεπάρκεια, θεραπεία με L-ασπαραγινάση, πρωτοπαθής ινωδόλυση)

D-Διμερή (d-dimers, DDs)

- Τα D-διμερή είναι τα τελικά προϊόντα της διάσπασης του ινώδους από την πλασμίνη
- **φ.τ.: 0-0,5 μg/ml**
- Παθολογική αύξηση DDs παρατηρείται στην ενεργοποίηση της ινωδολυτικής δραστηριότητας λόγω απρόσφορης πυροδότησης του μηχανισμού της πήξης
- Αυξημένα επίπεδα D-διμερών παρατηρούνται στην πνευμονική εμβολή, την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, την διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), μετεγχειρητικά ή σε κακοήθη νοσήματα
- Χρήσιμη είναι η μέτρηση των D-διμερών κατά την παρακολούθηση της αντιπηκτικής αγωγής, γιατί όσο τα επίπεδά τους παραμένουν υψηλά τόσο ενισχύεται η πιθανότητα υποτροπής της θρόμβωσης και κατά συνέπεια δεν μπορεί να γίνει διακοπή της αντιπηκτικής αγωγής

Επισήμανση

- Το PT, aPTT, το ινωδογόνο και τα DDs είναι ανιχνευτικές εξετάσεις (screening test) του μηχανισμού πήξης και δεν ταυτοποιούν συγκεκριμένη διαταραχή ή έλλειψη παράγοντα
- Η ταυτοποίηση και διάγνωση της αιμορραγικής διαταραχής θα γίνει μόνο με περαιτέρω έλεγχο της αντιγονικής και βιολογικής δράσης του ή των παραγόντων πήξης, που με βάση το σύνολο των κλινικοεργαστηριακών δεδομένων ανά ασθενή θέτουν την κλινική υποψία συγκεκριμένων νοσημάτων κληρονομικών ή επίκτητων

Ασθενής με παρατεταμένο χρόνο ροής και φυσιολογικό αριθμό ΑΜΠ

- ✓ Ποιοτική διαταραχή αιμοπεταλίων (θρομβοπάθεια ή θρομβασθένεια)
- ✓ Λειτουργικές διαταραχές του αγγείου
- ✓ Νόσος Willebrand

Παρατεταμένος χρόνος ροής και παρατεταμένο aPTT

✓ Νόσος Willebrand

Παρατεταμένο PT και φυσιολογικό aPTT

- Ανεπάρκεια παράγοντα VII ή ανασταλτή του (σπάνιο)
- Έλλειψη Βιταμίνης K (συνυπάρχει μικρή αύξηση aPTT)
- Λήψη κουμαρινικών αντιπηκτικών (συνυπάρχει μικρή αύξηση aPTT)

Παρατεταμένο aPTT και φυσιολογικό PT

- Λήψη κλασσικής ηπαρίνης
- Ανεπάρκεια παράγοντα VIII (Αιμορροφιλία A ή Νόσος Willebrand)
- Ανεπάρκεια παράγοντα IX (Αιμορροφιλία B)
- Ανεπάρκεια παράγοντα XI (Αιμορροφιλία C)
- Επίκτητοι ανασταλτές του FVIII

Παρατεταμένο ΡΤ και aΡΤΤ

- Ανεπάρκεια παράγοντα ΙΙ (προθρομβίνη)
- Ανεπάρκεια παράγοντα V
- Ανεπάρκεια παράγοντα Χ
- Ανεπάρκεια παράγοντα Ι (ινωδογόνο)
- Ανεπάρκεια Βιταμίνης Κ
- Ηπατική νόσος
- Λήψη κουμαρινικών
- Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (συνυπάρχει χαμηλή τιμή ινωδογόνου, θρομβοπενία και σχιστοκύτταρα)

❖ Ακολουθεί σειρά διαφανειών για ανάγνωση με στόχο τη σφαιρική προσέγγιση του μαθήματος

Ανασταλτές του μηχανισμού πήξης

- Όταν ενεργοποιείται ο μηχανισμός της πήξης, ο σχηματιζόμενος θρόμβος πρέπει να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης αλλά και να λύεται όταν πρέπει, ώστε να αποκαθίσταται η ομαλή ροή αίματος στο αγγείο
- Η ρύθμιση αυτή επιτυγχάνεται με 2 μηχανισμούς, οι οποίοι ελέγχουν την παραγωγή της θρομβίνης:
 1. **Ένα άμεσο σύστημα αναστολέων των πρωτεασών σερίνης**, που περιλαμβάνουν την αντιθρομβίνη (AT) και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (tissue factor pathway Inhibitor, TFPI). Η AT απενεργοποιεί κυρίως τη θρομβίνη και τους παράγοντες IXa, Xa, XIa, δημιουργώντας συμπλέγματα 1:1, ενώ ο TFPI αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα (εξωγενής οδός)
 2. **Ένα έμμεσο βιταμινο-K εξαρτώμενο σύστημα** που αποτελείται από την πρωτεΐνη C (PC) και τον συμπαράγοντά της, την πρωτεΐνη S (PS). Η οδός της PC ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβίνης/θρομβομοντουλίνης (TM) που βρίσκεται στο ενδοθήλιο. Η ενεργοποιημένη PC (APC) με την παρουσία του συμπαράγοντά της (PS), απενεργοποιεί με πρωτεόλυση τους Va και VIIIa και σταματά την παραγωγή του θρόμβου ινικής

Ενεργοποιητές και ανασταλτές της ινωδόλυσης

Ενεργοποιητές του πλασμινογόνου

1. Ο **ιστικός ενεργοποιητής (tPA)**, που παράγεται από το αγγειακό ενδοθήλιο
2. Ο **ενεργοποιητής τύπου ουροκινάσης (uPA)**, που παράγεται στα νεφρικά κύτταρα
3. **Πλασματικοί ενεργοποιητές**, όπως οι παράγοντες XI, XII, το υψηλού μοριακού βάρους κινινογόνο (HMWK) και η καλλικρεΐνη

Αναστολή της ινωδόλυσης

- Οι ανασταλτές του ινωδολυτικού μηχανισμού ταξινομούνται σε δύο ομάδες: τους αναστολείς της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου και τους αδρανοποιητές της ενεργοποιημένης μορφής του ενζύμου, της πλασμίνης. Στους ανασταλτές της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου ανήκουν:
 1. Ο **ανασταλτής-1 του πλασμινογόνου (PAI-1)**, που παράγεται στο ενδοθήλιο των αγγείων και το ήπαρ και αδρανοποιεί τον tPA
 2. Ο **ανασταλτής-2 του πλασμινογόνου (PAI-2)**, που παράγεται στον πλακούντα, αδρανοποιεί κυρίως την ουροκινάση και δευτερευόντως τον tPA
- Κύριος ανασταλτής της πλασμίνης είναι η **A2 -αντιπλασμίνη**

Προτύπωση μεθόδου μέτρησης PT

- Λόγω των μεγάλων διαφορών στη δραστικότητα που παρουσιάζουν οι θρομβοπλαστίνες που κυκλοφορούν στο εμπόριο, καθιερώθηκε η χρήση του INR (International Normalised Ratio) το οποίο καθορίζεται από το δείκτη ευαισθησίας του χρησιμοποιούμενου αντιδραστηρίου ISI (International Sensitivity Index), ώστε τα αποτελέσματα των διαφόρων εργαστηρίων να είναι συγκρίσιμα

$$\text{INR} = (\text{PT ασθενούς} / \text{PT μάρτυρα})^{\text{ISI}}$$

- Η θεραπευτική δράση των κουμαρινικών αντιπηκτικών βασίζεται στην τιμή INR

Έλεγχος πρωτογενούς αιμόστασης

Αριθμός και λειτουργία αιμοπεταλίων

- Μέτρηση των αιμοπεταλίων σε αυτόματο αναλυτή
- Μέτρηση και μελέτη μεγέθους αιμοπεταλίων στο επίχρισμα του περιφερικού
- Φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων δεν αποκλείει ποιοτικές διαταραχές αυτών
- Ελλείψεις γλυκοπρωτεϊνών στην επιφάνειά τους ή το πλάσμα προκαλούν διαταραχές προσκόλλησης (έλλειψη της GpIb στη θρομβοπάθεια Bernard Soulier και τη νόσο Willebrand) και συσσώρευσης (έλλειψη της γλυκοπρωτεΐνης GpIIb/IIIa στη θρομβασθένεια Glanzmann)
- Ο λειτουργικός έλεγχος των αιμοπεταλίων γίνεται σε ειδικούς αναλυτές που ελέγχουν φωτομετρικά τη δημιουργία συσσωρεύσεων αιμοπεταλίων, μετά την προσθήκη ουσιών που προάγουν την ενεργοποίησή τους (ADP, κολλαγόνο, επινεφρίνη, αραχιδονικό οξύ, θρομβίνη, ιόντα ασβεστίου)
- Για τον έλεγχο της **λειτουργικότητας των μορίων (και όχι των κυττάρων) που συμμετέχουν στη διαδικασία της προσκόλλησης**, χρησιμοποιείται η ριστοσετίνη, ένα αντιβιοτικό που συνδέει τα αιμοπετάλια μεταξύ τους μέσω του παράγοντα vWF. Πρόκειται για ένα σπουδαίο διαγνωστικό εργαλείο στη διάγνωση της νόσου Willebrand. Σε περίπτωση απουσίας ή δυσλειτουργίας του παράγοντα vWF ή των υποδοχέων του, δεν προκαλείται συσσώρευση αιμοπεταλίων παρουσία ριστοσετίνης (Rcof)