

Raport z II Konferencji „Postępy w hemostazie” pod patronatem Grupy ds. Hemostazy Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów

Sopot, 14–15 maja 2009 roku

Celem Konferencji było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy i najnowszych osiągnięć badawczych w zakresie skaz krwotocznych i zakrzepicy. Koagulologia jest dziedziną rozwijającą się niezwykle dynamicznie, a zmiany, jakie nastąpiły od czasu I Konferencji „Postępy w Hemostazie” 2008, były znaczące. W tym roku Konferencja składała się z trzech sesji: Skazy Krwotoczne, Zakrzepica i Płytki Krwi. Omówiono także 6 ciekawych i instryktywnych przypadków. Konferencja odbywała się pod patronatem Grupy ds. Hemostazy Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, której Przewodniczącą jest prof. dr hab. n. med. Krystyna Zawilska.

Poniżej przedstawiono streszczenia referatów plenarnych i opisów przypadków.

STRESZCZENIA REFERATÓW PLENARNYCH

Wrodzone złożone niedobory czynników krzepnięcia

Beata Baran

Pracownia Hemostazy Zakładu Diagnostyki Hematologicznej
 i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

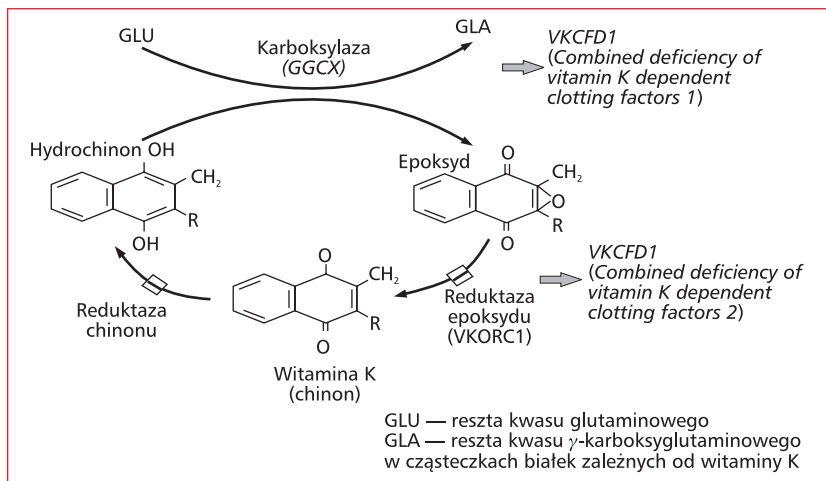
Wrodzone, złożone niedobory czynników krzepnięcia są grupą bardzo rzadko występujących skaz krwotocznych, charakteryzujących się jednoczesnym obniżeniem aktywności dwóch lub więcej czynników krzepnięcia w osoczu. Podłożem występowania tych schorzeń może być niezależne współistnienie kilku mutacji obejmujących geny różnych czynników krzepnięcia lub jeden defekt genetyczny czy cytogenetyczny. Od wielu lat opisywano złożone niedobory czynników krzepnięcia, na przykład: czynników VII i VIII (Machin i wsp. 1980), czynników VIII, IX, XI (Soff i wsp. 1981), czynnika XI i czynnika von Willebranda (Sano i wsp. 1993). Etiologia tych niedoborów nie została wyjaśniona, a opisy miały charakter pojedynczych doniesień.

Postęp w badaniach z zakresu biologii molekularnej i biotechnologii pozwolił na wyjaśnienie podłoża wrodzonego, złożonego niedoboru czynników krzepnięcia zależnych od witaminy K (VKCFD, *combined deficiency of vitamin K dependent clotting factors*) oraz wrodzonego, złożonego niedoboru czynników krzepnięcia V i VIII (F5F8CD, *combined deficiency of factor V and factor VIII*).

Wrodzony, złożony niedobór czynników krzepnięcia zależnych od witaminy K

Czynniki zespołu protrombiny: II, VII, IX, X są syntetyzowane w komórkach miąższu wątroby. Niezbędnym kofaktorem tej syntezy jest witamina K. Przy jej udziale enzym γ -karboksylaza (GGCX, *γ -glutamyl carboxylase*) katalizuje proces potranslacyjnej karboksylacji kwasu glutaminowego w cząsteczce białek prekursorowych, w wyniku czego następuje zamiana kilkunastu reszt kwasu glutaminowego w reszty kwasu γ -karboksylglutaminowego. Obecność tego ostatniego aminokwasu determinuje zdolność czynników zespołu protrombiny do wiązania jonów wapniowych i, co za tym idzie, możliwość tworzenia kompleksów z fosfolipidami. Etapem koniecznym do działania witaminy K jest jej zamiana w aktywną postać hydrochinonową, która ulega utlenieniu do epoksydu. Epoksyd redukowany jest do postaci chinonowej. Enzymem niezbędnym do regeneracji witaminy K jest reduktaza epoksydu witaminy K (VKOR, *vitamin K epoxide reductase*) (ryc. 1). Mutacje w genach enzymów GG CX lub VKOR będą powodowały zaburzenia w procesie karboksylacji i mogą prowadzić do VKCFD. Jeżeli defektem objęty jest gen karboksylazy, mówimy o typie 1 wrodzonego, złożonego niedoboru czynników krzepnięcia zależnych od witaminy K (VKCFD1). Występowanie typu 2 (VKCFD2) powodowane jest przez mutacje w genie reduktazy epoksydu.

Pierwszy przypadek VKCFD opisał Macmillan i wsp. w 1966 roku i do tej pory wykryto zaledwie kilka takich przypadków na całym świecie. VKCFD1 i 2 dziedziczą się autosomalnie recesywnie. Objawy skazy pojawiają się



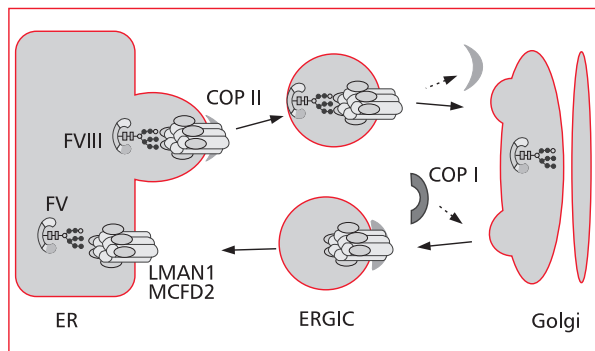
Rycina 1. Schemat metabolizmu witaminy K oraz enzymy, których mutacje mogą prowadzić do wrodzonego, złożonego niedoboru czynników krzepnięcia zależnych od witaminy K (VKCFD)

w pierwszych dniach życia, a do najczęściej występujących zalicza się: krwawienia do ośrodkowego układu nerwowego, samoistne wylewy dostawowe. W leczeniu stosuje się duże dawki witaminy K, zapewniając jedynie częściową korekcję skazy i nie u wszystkich chorych.

Wrodzony, złożony niedobór czynników krzepnięcia V i VIII

Czynniki krzepnięcia V i VIII należą do grupy czynników wrażliwych na trombinę. Te proteazy serynowe charakteryzują się dużą masą cząsteczkową (330 kD) i są najbardziej labilnymi spośród wszystkich czynników krzepnięcia. Czynniki V i VIII mają podobną strukturę domen: A1-A2-B-A3-C1-C2. Badania ostatnich lat wykazały, że podlegają one również podobnym procesom potranslacyjnym. Te same receptorowe białka przezłonowe odpowiadają za transport czynnika V, jak i VIII między siateczką śródplazmatyczną (ER, *endoplasmic reticulum*) a aparatem Golgiego; LMAN1 (*lectin MANnose binding protein*, znane także jako ERGIC-53) i MCFD2 (*multiple coagulation factor deficiency 2*) działają w kompleksie. LMAN1 reaguje z kompleksem białek opłaszczających pęcherzyk COPII (*coat protein complex II*); MCFD2 ma w swojej strukturze dwie domeny wiążące Ca^{2+} (*EF-hand*) i odpowiada za przyłączanie czynnika V/VIII. Prawidłowo syntetyzowany czynnik V/VIII wychwytywany jest w siateczce śródplazmatycznej przez MCFD2 (ryc. 2). Następnie po połączeniu w kompleks z LMAN1, w pęcherzyku COPII, transportowany jest do aparatu Golgiego. Po uwolnieniu czynnika V/VIII w aparacie Golgiego kompleks LMAN1/MCFD2, w pęcherzyku COPI, wraca do siateczki śródplazmatycznej (Zhang i wsp. 2004).

Mutacje w genie LMAN1 są przyczyną występowania F5F8CD w 70% przypadków. W pozostałych 30% przypadków defektem objęty jest gen MCFD2.



Rycina 2. Schemat przebiegu transportu czynników krzepnięcia V i VIII z siateczki śródplazmatycznej do aparatu Golgiego; COPI/COPII — *coat protein complex I/II*; ERGIC — *ER-Golgi intermediate compartment*

F5F8CD charakteryzuje się równomiernym obniżeniem zawartości czynników krzepnięcia V i VIII w osoczu (5–30%). Objawy kliniczne są podobne jak w przypadku niedoboru jednego z czynników krzepnięcia V lub VIII. Najczęściej są to: krwawienia z nosa, łatwe siniaczenie, przedłużone, obfite krwawienia miesięczne, krwawienia po urazach, krwawienia pooperacyjne. Częstość występowania F5F8CD szacowana jest na 1:1 000 000. W leczeniu stosuje się koncentraty cz. VIII (i/lub DDAVP) oraz świeżo mrożone osocze.

F5F8CD — opis przypadku (Ivaskevicius, Windyga i wsp. 2008)

Trzydziestoośmioletnia letnia pacjentka została skierowana do Instytutu w celu diagnostyki skazy krwotocznej. Z analizy dokumentacji medycznej wynikało, że chora przeżyła masywny krwotok 10 dni po porodzie.

W obrazie klinicznym występowały także krwawienia z nosa, przedłużone i obfite krwawienia miesięczne, łatwe siniaczenie, krwawienia po ekstrakcjach zębów. W wykonanych badaniach układu krzepnięcia krwi stwierdzono przedłużony: czas protrombinowy (PT — 25 s [64%] n. 16s), czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT — 69 s n. 25–33 s) oraz zmniejszoną zawartość czynników krzepnięcia V i VIII (VIII:C — 17% n. 50–150%, V:C — 12% n. 80–120%). Wykluczono też chorobę von Willebranda. Analiza sekwencji genów LMAN1 i MCFD2 (*ABI Prism 310; Applied Biosystems*) wykazała występowanie nowej mutacji punktowej w eksonie 4 genu MCFD2 (c.403T > A, p.Tyr135Asn).

Poznanie nowych procesów biologicznych pozwoli w przyszłości na optymalizację leczenia krwawień u chorych z VKCFD1/2, zmniejszenie ryzyka wystąpienia krwawień w trakcie leczenia doustnymi antykoagulantami, umożliwi efektywną produkcję koncentratów czynników krzepnięcia oraz wprowadzenie terapii genowej.

Wrodzone zaburzenia syntezy fibrynogenu

Joanna Zdziarska

Katedra i Klinika Hematologii *Collegium Medicum*
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Wrodzone zaburzenia syntezy fibrynogenu zalicza się do tak zwanych rzadkich osoczowych skaz krwotocznych, których częstość w populacji ogólnej jest znacznie mniejsza niż częstość choroby von Willebranda i hemofilii. Dzielą się one na zaburzenia ilościowe (afibrynogenemia i hipofibrynogenemia) oraz jakościowe (dysfibrynogenemia, której może towarzyszyć również spadek aktywności fibrynogenu w osoczu — wówczas nazywana hipodysfibrynogenemią). U podłoża tych jednostek chorobowych leżą mutacje w obrębie genów FGA, FGB, FGG zlokalizowanych na długim ramieniu chromosomu 4, kodujących łańcuchy alfa, beta i gamma cząsteczki fibrynogenu. Afibrynogenemia jest chorobą dziedziczną autosomalnie recesywnie, a mutacje, które ją wywołują, należą zwykle do tak zwanej mutacji null. Hypofibrynogenemia jest dziedziczna autosomalnie dominująco, przy czym obecnie dominuje pogląd, że jest ona heterozygotyczną postacią afibrynogenemii. Dysfibrynogenemii w większości przypadków również dziedziczny się w sposób dominujący.

Panel badań laboratoryjnych pomocnych w ustaleniu rozpoznania i różnicowaniu wrodzonych zaburzeń syntezy fibrynogenu obejmuje: czas częściowej tromboplastyny po aktywacji, czas protrombinowy i czas trombinowy, aktywność fibrynogenu (najczęściej badana metodą Clausa) oraz stężenie fibrynogenu badane metodami immunologicznymi. W rozróżnieniu zaburzeń ilościowych i jakościowych pomaga obliczenie stosunku aktywności fibrynogenu do jego stężenia.

Defekty syntezy fibrynogenu są zaburzeniami układu hemostazy, do których obrazu klinicznego należą za-

równo powikłania krwotoczne, jak i zakrzepowe. Tendencję do zakrzepicy tłumaczy się nadmierną aktywnością płytek krwi pod wpływem trombiny, zbyt powoli neutralizowanej w wyniku braku lub osłabienia jej adsorpcji na fibrynie.

Afibrynogenemia (niewykrywalne stężenie i aktywność fibrynogenu) odznacza się głównie krwawieniami z kikuta pępowiny, krwawieniami ze śluzówek oraz do mięśni i stawów. Może również objawiać się zakrzepicą, upośledzonym gojeniem ran i/lub nawracającymi, wczesnymi poronieniami. Hipofibrynogenemia najczęściej bywa bezobjawowa i wykrywana przypadkowo. W niektórych przypadkach może manifestować się nadmierną tendencją do krwawień po zabiegach operacyjnych lub powikłaniami zakrzepowymi. Należy ją różnicować z nabytym niedoborem fibrynogenu, towarzyszącym chorobom wątroby lub zespołowi rozsianego wykrzepiania wewnątrz-naczyniowego.

Dysfibrynogenemia sprawia niekiedy poważne trudności diagnostyczne, ponieważ wyniki badań przesiewowych mogą w niektórych przypadkach być prawidłowe (najbardziej czułym oznaczeniem jest czas trombinowy). Zwykle rozstrzygający jest stosunek aktywności fibrynogenu do jego stężenia, jednak w części przypadków dysfibrynogenemii ostateczne postawienie rozpoznania jest możliwe dopiero na podstawie badań genetycznych. Częstość tego zaburzenia w populacji ogólnej pozostaje nieznana. Ponad połowa przypadków przebiega bezobjawowo, w około 25% przypadków dysfibrynogenemia objawia się krwawieniami, a w 20% zakrzepicą (zwykle w obrębie naczyń żylnych kończyn dolnych). Dysfibrynogenemia zwiększa również ryzyko poronień. Nabyta dysfibrynogenemia może towarzyszyć chorobom wątroby i dróg żółciowych lub chorobom z autoagresji, może też mieć charakter zespołu paraneoplastycznego w przebiegu raka nerki lub raka wątroby.

Leczenie zaburzeń fibrynogenu polega na uzupełnianiu tego białka za pomocą koncentratu fibrynogenu (optymalnie) lub krioprecypitatu. Stosowanie świeżo mrożonego osocza nie jest zalecane między innymi z uwagi na konieczność podawania dużych objętości preparatu. Jedną jednostką (30–40 ml) krioprecypitatu zawiera co najmniej 140 mg fibrynogenu, a zwykle stosowane dawkowanie to 1–2 j./10 kg mc.

Hemostatyczne stężenie fibrynogenu wynosi zwykle 50–100 mg/dl, niektórzy pacjenci mogą wymagać jednak bardziej intensywnej substytucji. W przypadku afibrynogenemii odpowiednie preparaty należy podawać również profilaktycznie — przed procedurami inwazyjnymi, porodami itp. Pacjenci chorzy na hipofibrynogenemii i dysfibrynogenemii wymagają indywidualnego podejścia terapeutycznego, a decyzje kliniczne opierają się w dużej mierze na wywiadzie osobniczym i rodzinnym. Kobiety chore na afibrynogenemii w okresie ciąży wymagają profilaktycznego podawania koncentratu fibrynogenu lub krioprecypitatu, aby zapobiec poronieniu. Substytucję

rozpoczyna się w 4.–5. tygodniu ciąży w celu utrzymania stężenia fibrynogenu na poziomie 50–100 mg/dl (należy jednak mieć na uwadze, że wraz z czasem trwania ciąży zapotrzebowanie na fibrynogen rośnie). Decyzja o rozpoczęciu profilaktyki podczas ciąży u kobiet z hipofibrynogenią i dysfibrinogenią wymaga podejścia indywidualnego, ponieważ ryzyko powikłań bywa trudne do określenia. W przypadku dysfibrinogenu o znanym charakterze prozakrzepowym należy zastosować profilaktyczne leczenie przeciwkrzepliwe w okresie połogu. W innych sytuacjach klinicznych u pacjentów z wrodzonymi zaburzeniami syntezy fibrynogenu leczenie przeciwkrzepliwe należy rozważać indywidualnie.

Postępy w leczeniu hemofilii

Jerzy Windyga

Klinika Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii

Współczesne leczenie ciężkiej i umiarkowanej hemofilii opiera się na substytucji brakującego czynnika krzepnięcia krwi — VIII (cz. VIII) w hemofilii A i IX (cz. IX) w hemofilii B. Źródłem czynników krzepnięcia są ich liofilizowane koncentraty. Początkowo wytwarzano je wyłącznie z ludzkiego osocza. W 1989 roku po raz pierwszy zastosowano w lecznictwie koncentrat rekombinowanego czynnika VIII (rVIII), uzyskanego metodą inżynierii genetycznej. Obecnie rVIII i rIX stanowią podstawę leczenia substytucyjnego hemofilii A i B we wszystkich wysoko rozwiniętych krajach.

Wprowadzenie rekombinowanych czynników krzepnięcia do leczenia hemofilii miało wielkie znaczenie, co najmniej z 3 powodów. Po pierwsze, uczyniło terapię substytucyjną bardziej bezpieczną, gdyż ryzyko przeniesienia czynników zakaźnych przez koncentraty rekombinowane jest mniejsze w porównaniu do koncentratów osoczo pochodnych. Po drugie, umożliwiło wdrożenie na szerszą skalę pierwotnej profilaktyki krwawień u dzieci chorych na ciężką hemofilię. Przed erą leków rekombinowanych zaopatrzenie w koncentraty cz. VIII i cz. IX nie było na tyle duże, aby ten cel zrealizować. Wystarczy powiedzieć, że w ciągu ostatnich 15 lat globalna roczna produkcja koncentratów czynnika VIII wzrosła z 2 mld do ponad 5 mld j. Po trzecie, rVIII i rIX mogą być poddawane różnorodnym modyfikacjom, których celem jest uzyskanie „udoskonalonych” czynników krzepnięcia. Przykładem może być rekombinowany czynnik VIII pozbawiony domeny B. Ekspresja mRNA rVIII pozbawionego domeny B w hodowlanych komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO) jest 20-krotnie większa od ekspresji mRNA natywnego czynnika VIII.

Najlepszym świadectwem postępu, jaki dokonał się w leczeniu ciężkiej hemofilii w ostatnich latach, jest wydłużenie czasu życia pacjentów dotkniętych tą skazą z 8–11 lat w latach 20. i 30. XX wieku do 65 lat w 2004 roku. Obecnie nadrzędnym celem w leczeniu hemofilii nie jest już hamowanie krwawień, ale ich skuteczna prewencja.

Wiadomo bowiem, że wystarczy kilka, a niekiedy nawet jeden duży wylew krwi do stawu, aby doszło w ciągu kilku lat do jego nieodwracalnego zwyrodnienia. Aby zapobiegać samoistnym krwawieniom w ciężkiej hemofilii, konieczne jest profilaktyczne podawanie koncentratu niedoborowego czynnika krzepnięcia. Jednakże długoterminowe, profilaktyczne stosowanie koncentratów czynników krzepnięcia rodzi wiele problemów. Bodaj największą niedogodnością dla pacjentów jest konieczność wykonywania częstych zastrzyków dożylnych. Trudności w uzyskaniu dobrego dostępu dożylnego u najmłodszych pacjentów z hemofilią są najważniejszą przyczyną rezygnacji z pierwotnej profilaktyki. Drugim bardzo ważnym problemem jest wciąż niewystarczające zaopatrzenie w koncentraty czynników krzepnięcia krwi. Przewaga popytu nad podażą tych leków przyczynia się do windowania ich cen. Dane piśmiennictwa wskazują, że cała światowa produkcja liofilizowanych koncentratów czynników krzepnięcia krwi jest zużywana przez zaledwie 20% światowej populacji chorych na hemofilię — przez tych, którzy zamieszkują najlepiej rozwinięte kraje Europy, Ameryki i Azji.

Ostatecznym celem badaczy zajmujących się hemofilią i wielką nadzieją pacjentów obciążonych tą skazą jest skuteczna terapia genowa hemofilii, czyli jej wyleczenie. Niestety, pomimo dużych nakładów finansowych i zaangażowania znakomitych zespołów badawczych cel ten jest wciąż nieosiągalny. Nie oznacza to jednak, że w najbliższej przyszłości nie powinniśmy spodziewać się ważnych innowacji w terapii hemofilii. W sierpniu 2008 roku została zainicjowana pierwsza w historii próba kliniczna drugiej fazy nad koncentratem czynnika VIII o przedłużonym działaniu. Jeśli wyniki tej próby spełnią pokładane w niej nadzieje i do kliniki zostanie wprowadzony koncentrat czynnika VIII o przedłużonym działaniu, to będziemy świadkami wielkiego przełomu w leczeniu hemofilii A, porównywalnego chyba jedynie z wprowadzeniem przed 30 laty do lecznictwa liofilizowanych koncentratów czynnika VIII. Najważniejsze korzyści płynące z dostępu do czynników o przedłużonym działaniu to: 1) możliwość radykalnego zmniejszenia częstości wykonywania iniekcji dożylnych; 2) zaoszczędzenie znacznych ilości koncentratu oraz — prawdopodobnie — 3) zmniejszenie kosztów terapii.

Postęp leczenia hemofilii wyraża się nie tylko stosowaniem coraz skuteczniejszych i nowocześniejszych koncentratów czynników krzepnięcia, ale także lepszą organizacją opieki nad chorymi na wrodzone skazy krwotoczne. Ostatnio Europejskie Stowarzyszenie Hemofilii i Chorób Pokrewnych (EAHAD) opublikowało europejskie zasady opieki nad chorymi na hemofilię [Colvin i wsp. *European principles of haemophilia care. Haemophilia* 2008; 14: 361–374]. Dokument zawiera 10 głównych zasad, w tym między innymi konieczność zapewnienia chorym na wrodzone skazy krwotoczne dostępu do wysokospecjalistycznych ośrodków leczenia hemofilii. Powstanie sieci takich ośrodków w Polsce jest jednym z najważniejszych

i najpilniejszych zadań stojących przed środowiskiem hematologów w naszym kraju. Zgodnie z ideą zaprezentowaną w cytowanym dokumencie, ośrodki te powinny zajmować się szeroko pojętym zagadnieniem zaburzeń hemostazy, a więc obok wrodzonych skaz krwotocznych, także problemami zakrzepowo-zatorowymi.

Indukcja tolerancji immunologicznej u chorych na hemofilię z inhibitorem czynnika VIII lub IX

Anna Klukowska

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Inhibitory czynnika VIII lub IX u chorych na hemofilię to przeciwciała o charakterze neutralizującym, które powstają jako reakcja na stosowany leczniczo czynnik krzepnięcia. Należą do klasy IgG, głównie IgG4 i IgG1, ale mogą występować we wszystkich subklasach. Ze względu na częstsze występowanie inhibitorów czynnika VIII (cz. VIII) więcej o nich wiadomo niż o inhibitorach czynnika IX (cz. IX). Większość inhibitorów cz. VIII wiąże się z ważnymi czynnościowo domenami cz. VIII i zapobiega interakcji z innymi czynnikami krzepnięcia, takimi jak trombina, cz. IXa, X, cz. von Willebranda czy fosfolipidami. Inne o charakterze katalitycznym powodują hydrolizę cz. VIII. Wpływ na powstawanie inhibitorów cz. VIII mają czynniki genetyczne i środowiskowe. Mutacje w ciężkiej postaci hemofilii związane z dużymi delecjami w genie cz. VIII, inwersja w obrębie 22 intronu oraz mutacje nonsensowne powodują duże ryzyko wystąpienia inhibitora. Są związane z brakiem wytwarzania endogenego cz. VIII, wobec czego cz. VIII nie jest prezentowany układowi immunologicznemu w czasie jego rozwoju i podany leczniczo rozpoznawany jest jako obce białko. Mutacje chybione lub małe delecje prowadzą do wytwarzania nieaktywnego cz. VIII, co powoduje rozpoznawanie leczniczo podawanego cz. VIII jako zmienionego własnego białka i wobec tego wiąże się z rzadszym występowaniem inhibitora. Większe jest również prawdopodobieństwo pojawienia się inhibitora w rodzinie, w której wcześniej obserwowano inhibitor. Niektóre polimorfizmy w genach mających wpływ na odpowiedź immunologiczną są czynnikiem dużego ryzyka wystąpienia inhibitora cz. VIII, na przykład IL 10 i TNF-alfa. W łagodnej postaci hemofilii ryzyko wystąpienia inhibitora jest znacznie mniejsze niż w postaci ciężkiej. Czynnik podawany leczniczo nie jest zupełnie obcym białkiem, bo produkowany jest przez organizm dawcy, ale różni się od własnego antygenowo. Intensywne leczenie tych chorych związane z zabiegiem operacyjnym lub dużym urazem jest czynnikiem sprzyjającym powstaniu inhibitora. Inhibitor pojawia się przede wszystkim u małych dzieci przed 18. miesiącem życia w trakcie pierwszych 20 dni leczenia koncentratem cz. VIII. Wśród chorych z inhibitorem wyróżniamy dobrze odpowiadających na bodziec antygenowy (*high responders*)

ze stężeniem inhibitora powyżej 5 jednostek Bethesda w mililitrze (jB/ml), słabo odpowiadających na bodziec antygenowy (*low responders*) ze stężeniem inhibitora nieprzekraczającym nigdy 5 jB/ml oraz chorych z przejściowym inhibitorem o niskim stężeniu, samoistnie ustępującym w ciągu 6 miesięcy przy niezmiennym leczeniu. Stopień uszkodzenia stawów jest znacznie większy, a jakość życia znacznie gorsza u chorych na hemofilię z inhibitorem niż chorych bez inhibitora ze względu na mniej skuteczne leczenie. Wobec tego sprawą pierwszorzędną jest dążenie do wyeliminowania inhibitora u każdego chorego na hemofilię A po wykryciu wysokiego stężenia inhibitora cz. VIII (> 5 jB/ml) i powrotu do skutecznego leczenia koncentratem cz. VIII. Jedyną aktualnie znaną metodą jest wywołanie stanu immunotolerancji (ITI) przez długotrwałe nieprzerwane stosowanie cz. VIII. Zwykle koncentrat cz. VIII podawany jest codziennie, co 12 lub 24 godziny w dawce powyżej 100 j/kg mc, chociaż znane są inne schematy podawania — rzadziej i niższych dawek. ITI powinna być kontynuowana do czasu ustąpienia inhibitora (< 0,6 jB/ml) oraz uzyskania prawidłowego odzyskania cz. VIII (≥ 66% przewidywanego) i czasu półtrwania cz. VIII (≥ 6 godz.). Skuteczność ITI jest największa, gdy rozpocznie się ją przy stężeniu inhibitora niższym niż 10 jB/ml, nie później niż w ciągu 5 lat od jego wykrycia a najwyższe stężenie inhibitora nie przekracza 200 jB/ml. Zalecane jest nawet odroczenie ITI, ale nie dłuższe niż 1–2 lata do obniżenia się stężenia inhibitora i unikanie w tym czasie preparatów wywołujących odpowiedź anamnesticzną (zawierających cz. VIII, również aktywowanym koncentracie zespołu protrombiny). Przerwy w ITI, zakażenia oraz stosowanie czynników wpływających na procesy immunologiczne, na przykład szczepień, niekorzystnie wpływają na skuteczność ITI. Nie ma wystarczających dowodów wykazujących wyższość jakiegokolwiek typu koncentratu cz. VIII i wobec tego kontynuuje się zwykle ten preparat, który stosowano przed pojawieniem się inhibitora. Jednak w przypadku niepowodzenia należy rozważyć włączenie koncentratu zawierającego cz. von Willebranda zamiast cz. VIII, który go nie zawiera. O częściowej skuteczności ITI mówimy przy obniżeniu się stężenia inhibitora poniżej 5 jB/ml i klinicznej odpowiedzi na cz. VIII. Jeżeli w ciągu 33 miesięcy ITI nie uzyskamy całkowitej lub częściowej skuteczności lub stężenie inhibitora nie zmniejszy się przynajmniej o 20% w kolejnych badaniach w ciągu 6 miesięcy, po pierwszych 3 miesiącach i przy braku zakażenia określa się ITI jako nieskuteczną.

Inhibitory w hemofilii B występują znacznie rzadziej niż w hemofilii A, co związane jest z częściej występującymi mutacjami chybionymi w genie cz. IX oraz wykrywalnym białkiem cz. IX. Skuteczność ITI jest mniejsza w hemofilii B (31%) niż w hemofilii A (70–100%). Ponadto u wielu chorych występują reakcje alergiczne na czynnik IX w czasie pojawienia się inhibitora oraz zespół nerczycowy po 8–9 miesiącach ITI, co zmusza do jej przerwania. Decyzję o rozpoczęciu ITI u chorych na hemofilię B

z inhibitorem, zwłaszcza przy współistnieniu reakcji alergicznych należy podjąć bardzo ostrożnie. Konieczne jest odczulanie lekami immunosupresyjnymi i antyhistaminowymi przed rozpoczęciem ITI, stosowanie małych dawek cz. IX oraz rutynowe badanie moczu w trakcie ITI. W czasie ITI konieczne jest stosowanie preparatów omijających w celu leczenia krwawień lub przy zabiegach operacyjnych w hemofilii A i B. U chorych na hemofilię B z reakcjami alergicznymi na cz. IX reakcje takie obserwowane są również po aktywowanym koncentracie zespołu protrombiny.

Czynniki ryzyka zakrzepicy w zespołach mieloproliferacyjnych

Maria Podolak-Dawidziak

Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Akademii Medycznej we Wrocławiu

Powikłania zakrzepowe nadal stanowią poważne zagrożenie zdrowia i życia u chorych na nowotworowe choroby mieloproliferacyjne, szczególnie w czerwienicy prawdziwej (CP) i nadpłytkowości samoistnej (NS). W nowotworach mieloproliferacyjnych obserwuje się zaburzenia w mikrokrążeniu oraz zakrzepicę tętniczą i żylną.

Już przy rozpoznaniu rozległą zakrzepicę stwierdzono u 34–39 % chorych na czerwienicę prawdziwą (CP) i 10–29% chorych na nadpłytkowość samoistną (NS), a w dalszym przebiegu odpowiednio 8–19% w CP i 8–31% w NS. Zakrzepica tętnicza występowała częściej niż żylna. Kolejne powikłania zakrzepowe umiejscawiają się często u chorych na CP i NS w tej samej okolicy co pierwszy incydent.

W obu chorobach podeszły wiek i incydenty zatorowo-zakrzepowe w wywiadzie są niezależnymi predykcyjnymi czynnikami nawrotowej zakrzepicy, a nie należą do nich płeć ani czas trwania choroby.

Zwiększona liczba leukocytów ($> 15\ 000/\mu\text{l}$) jest uznawana za potencjalny czynnik ryzyka zakrzepicy, lecz nie jest nim nadpłytkowość. Z kolei znaczne zwiększenie liczby płytek krwi ($> 500\ 000/\mu\text{l}$) nasila skłonność do krwawień.

Do wzrostu ryzyka zakrzepicy przyczynia się nie tylko zwiększenie liczby, ale też aktywacja granulocytów, co sprzyja tworzeniu agregatów granulocytowo-płytkowych. O aktywacji płytek krwi świadczy zwiększona ekspresja selektyny P, a o wzmożonej aktywacji granulocytów między innymi zwiększona ekspresja błonowej integryny $\beta 2$ CD11b i fosfatazy alkalicznej granulocytów, większa zawartość elastazy w cytoplazmie oraz wzrost stężenia elastazy i mieloperoksydazy we krwi.

U części chorych zmiany w granulocytach korelują ze zwiększoną aktywacją krzepnięcia, pobudzeniem śródbłoków i obecnością licznych mikrocząstek, co wzmacnia gotowość zakrzepową.

U chorych z zakrzepicą żył trzewnych, zwłaszcza młodszych, wskazana jest wnikliwa obserwacja kliniczna i badanie w kierunku nosicielstwa nabytej mutacji JAK2,

albowiem u części z nich rozwija — nawet po kilku latach — pełnoobjawowa nowotworowa choroba mieloproliferacyjna.

Hiperhomocysteinemia, która często występuje przy rozpoznaniu i u wielu chorych nasila się w miarę rozwoju choroby, nie umożliwia zróżnicowania chorych o większym zagrożeniu zakrzepicą.

Wciąż brakuje dużych dobrze kontrolowanych badań, a wyniki dostępnych nie dostarczają jednoznacznej odpowiedzi, czy i w jakiej mierze wrodzona i nabyta trombofilia oddziałuje na gotowość zakrzepową w CP i NS. W dwu badaniach u chorych na NS nie potwierdzono częstszego występowania mutacji cz. V Leiden i genu protrombiny G20210A u chorych na NS z powikłaniami zakrzepowymi. Natomiast w dużym retrospektywnym badaniu u chorych na CP i NS stwierdzono częstsze występowanie cz. V Leiden u chorych z zakrzepicą żylną w wywiadzie (16% v. 3%).

Nowe wytyczne diagnostyki i leczenia zatorowości płucnej

Krystyna Zawilska

Oddział Chorób Wewnętrznych i Hematologii Szpitala im. J. Strusia w Poznaniu

Różnorodne i niecharakterystyczne objawy kliniczne zatorowości płucnej (ZP) sprawiają, że przyżyciowo udaje się rozpoznać jedynie do 30% przypadków. Z powodu zaniechania wykonywania badań sekcyjnych ZP jest też często nierozpoznawana pośmiertnie. Z badania *Venous Thrombo-Embolic Impact Assessment Group in Europe* (VITAE) wynika, że w 2004 roku w 25 krajach Unii Europejskiej mogło zachorować na ZP ponad 435 000 osób. Na podstawie ekstrapolacji danych z badania VITAE można sądzić, że w Polsce co roku około 37 000 osób doznaje objawowej zatorowości płucnej. Żylna choroba zakrzepowo-zatorowa stanowi przyczynę ponad 90% zachorowań na ZP, a jej zapobieganie stanowi główną strategię ograniczenia liczby zachorowań na ZP. Badanie ENDORSE, obejmujące ponad 68 000 pacjentów w 32 krajach wykazało, że 42% chorych leczonych zachowawczo i 64% chorych w oddziałach chirurgicznych wymagało profilaktyki przeciwzakrzepowej ze względu na istniejące u nich czynniki zagrożenia zakrzepowego. W Polsce tylko ponad jedna trzecia (35%) pacjentów leczonych zachowawczo i dwie trzecie (66%) pacjentów z oddziałów zabiegowych z czynnikami ryzyka otrzymywało należną profilaktykę przeciwzakrzepową.

Omówiono aktualne wytyczne stratyfikacji ryzyka ZP, diagnostyki i leczenia ZP, na podstawie opublikowanych w 2008 roku zaleceń Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego oraz wytycznych 8. Konferencji Leczenia Przeciwwzakrzepowego i Trombolitycznego *American College of Chest Physicians* (ACCP).

Wybór schematu diagnostycznego opiera się na stanie klinicznym pacjenta i na prawdopodobieństwie rozpoznania ZP na podstawie obserwowanych objawów oraz historii choroby pacjenta. Prawdopodobieństwo rozpozna-

nia ZP oceniać można na podstawie skali Wellsa albo zmodyfikowanej skali genewskiej. Wstrząs lub hipotonia jednoznacznie kwalifikuje pacjenta do grupy „wysokiego ryzyka”, a ryzyko zgonu wynosi wtedy ponad 15% podczas hospitalizacji lub w ciągu 30 dni. Dysfunkcja prawej komory bądź uszkodzenie mięśnia sercowego stanowią podstawę zaliczenia pacjenta do grupy o „umiarkowanym ryzyku”, natomiast nieobecność tych cech pozwala na określenie „niskiego ryzyka” i wczesne zakończenie hospitalizacji bądź leczenie ambulatoryjne. Chorzy bez wstrząsu lub hipotonii są poddani dalszej stratyfikacji na podstawie prawdopodobieństwa rozpoznania PE. U osób o małym i umiarkowanym prawdopodobieństwie zatorowości płucnej należy oznaczyć stężenie dimeru D w osoczu, które ma wysoką ujemną wartość predykcyjną, a prawidłowy wynik pozwala na wykluczenie ZP u około 30% pacjentów, eliminując konieczność wykonywania dalszych badań. Przy stężeniu dimeru D przekraczającym normę należy potwierdzić lub wykluczyć zatorowość za pomocą wielorządowej tomografii komputerowej (TK), scyntygrafii perfuzyjnej płuc lub standardowej TK w połączeniu z USG żył kończyn dolnych (CUS, *compression venous ultrasonography*).

Chorzy o dużym klinicznym prawdopodobieństwie zatorowości powinni mieć od razu wykonaną wielorządową TK, bez oznaczania stężenia dimeru D.

Według nowych wytycznych u pacjenta z ZP wysokiego ryzyka należy niezwłocznie zastosować leczenie trombolityczne albo embolektomię, o ile nie ma bezwzględnych przeciwwskazań związanych z ryzykiem powikłań krwotocznych. Wybrani chorzy z ZP niewysokiego ryzyka (bez wstrząsu lub hipotensji), u których ryzyko krwawienia jest małe, kwalifikują się do leczenia trombolitycznego zależnie od obrazu klinicznego ZP, czyli od ryzyka zgonu — wysokie *v.* niewysokie — w ocenie lekarza. U chorych z ZP otrzymujących leczenie trombolityczne postępowaniem z wyboru jest podawanie leku przez żyłę obwodową, a nie przez cewnik umieszczony w tętnicy płucnej. Poleca się stosowanie schematów z szybkim (np. 2 h) raczej niż z długotrwałym (np. 24 h) wlewem leku. W leczeniu trombolitycznym ustalono wytyczne stosowania alteplazy, streptokinazy i urokinazy. Wstępne dane sugerują również skuteczność w leczeniu ZP pochodnych alteplazy — reteplazy i tenekteplazy.

U wybranych chorych z ZP i niestabilnością hemodynamiczną, u których nie można zastosować leczenia trombolitycznego z powodu dużego ryzyka krwawienia lub ciężkości stanu klinicznego niepozwalającego czekać na efekt ogólnoustrojowego leczenia trombolitycznego, zastosowanie znajduje mechaniczna fragmentacja lub usunięcie zakrzepu przez cewnik albo chirurgiczna embolektomia płucna, jeżeli są zapewnione odpowiednie warunki techniczne i doświadczony zespół leczący. Embolektomię płucną można też rozważyć u chorych z ZP i ruchomą skrzepliną w jamach prawego serca.

Większość chorych z ZP są to pacjenci niewysokiego ryzyka, którzy wymagają stosowania leków przeciwkrzepliowych. W nowych wytycznych są preferowane heparyny drobnocząsteczkowe (HDCz) stosowane podskórnie, zarówno w leczeniu szpitalnym, jeżeli jest ono potrzebne, jak i ambulatoryjnym, jeżeli jest ono możliwe. Heparyna niefrakcjonowana (HNF) w dawce dostosowanej do masy ciała znajduje natomiast zastosowanie u chorych z ciężką niewydolnością nerek (klirens kreatyniny < 30 ml/min). Alternatywą u tych chorych, a także u kobiet w ciąży, jest dawkowanie HDCz według aktywności anty-Xa badanej w osoczu około 4. godziny po ostatnim wstrzyknięciu heparyny; aktywność ta powinna wynosić 0,6–1,0 jm./ml przy stosowaniu HDCz co 12 godzin i 1,0–1,3 jm./ml przy stosowaniu co 24 godziny. HNF jest też preferowana w niektórych sytuacjach klinicznych (np. zagrożenie powikłaniami krwotocznymi, rozważanie leczenia trombolitycznego) z uwagi na jej krótki czas działania i możliwość łatwego zniesienia działania przeciwkrzepliowego.

Do leczenia ZP został wprowadzony nowy lek przeciwkrzepliwy — pośredni inhibitor czynnika Xa — fondaparynuks.

Doustny antykoagulant z grupy antagonistów witaminy K (acenokumarol albo warfaryna) należy włączyć od pierwszego dnia leczenia równocześnie z HNF, HDCz lub fondaparynuksiem. Heparynę lub fondaparynuks powinno się stosować przez co najmniej 5 dni, do czasu gdy wynik INR będzie wynosił > 2,0 przez kolejne 2 dni. Wyjątkiem są chorzy na nowotwór złośliwy, u których HDCz należy podawać przez 3–6 miesięcy od wystąpienia ZP.

Nowe wytyczne uzależniają czas leczenia przeciwzakrzepowego po ostrym incydencie ZP od ryzyka nawrotu zatorowości. U pacjentów z zatorowością związaną z przemijającymi czynnikami ryzyka zakrzepowego lub u tych, u których współistnieją możliwe do skorygowania przyczyny, leczenie można przerwać po 3 miesiącach. W pozostałych przypadkach należy ocenić korzyści i ryzyko przewlekłego leczenia przeciwkrzepliowego. Czynniki ryzyka nawrotu zakrzepicy o prawdopodobnym znaczeniu klinicznym to: obecność przeciwciał antyfosfolipidowych, wrodzona trombofilia, rezydualna skrzeplina w żyłach proksymalnych, zwiększone stężenie dimeru D w osoczu po zakończeniu leczenia przeciwkrzepliowego. Obecność tych czynników, a także stwierdzenie zakrzepowo-zatorowego nadciśnienia płucnego, wskazuje na konieczność stosowania wtórnej profilaktyki przeciwzakrzepowej przewlekłe, ze względu na ryzyko wystąpienia kolejnych epizodów ZP. U chorych, którzy przebyli ≥ 2 epizody żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, należy z zasady stosować tę profilaktykę przewlekłe. Obowiązuje wówczas okresowa ocena bilansu korzyści i ryzyka związanych ze stosowaniem antykoagulantu, który zapobiega nawrotowi ZP, ale jednocześnie zwiększa ryzyko wystąpienia powikłań krwotocznych.

Tabela 1. Najważniejsze wrodzone trombocytopatie

Ciężkie defekty płytek	Łagodne defekty płytek
Trombastenia Glanzmanna	Choroba puli magazynowej
Zespół Bernarda i Souliera	Defekt receptora dla ADP Defekty płytek związane z mutacją genu MYH-9 Płytkowy typ choroby von Willebranda

Zalecenia postępowania we wrodzonych trombocytopatiach

Krzysztof Chojnowski

Katedra i Klinika Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wrodzone zaburzenia czynności płytek krwi (wrodzone trombocytopatie — WT) stanowią dużą grupę bardzo rzadko rozpoznawanych skaz krwotocznych. Są one zróżnicowane pod względem rodzaju defektu płytek, sposobu dziedziczenia i przebiegu klinicznego. Częstość występowania wrodzonych zaburzeń czynności płytek w populacji ogólnej nie została dotychczas ustalona. Na podstawie badań przeprowadzanych wśród pacjentów z podejrzeniem skazy krwotocznej można sądzić, że WT są stosunkowo częstą przyczyną niewyjaśnionych krwawień, lecz są zbyt rzadko rozpoznawane. Ze względu na przebieg kliniczny wyróżnia się ciężkie i łagodne defekty płytek krwi (tab. 1).

U chorych z łagodnymi WT największe zagrożenie stwarzają krwawienia pourazowe. Istotnym problemem jest zapewnienie hemostazy w czasie zabiegów operacyjnych. Samoistne krwawienia zagrażające życiu mogą występować u chorych na trombastenię Glanzmanna i zespół Bernarda i Souliera. W niektórych WT poza skazą krwotoczną współlistnieją inne objawy kliniczne, składające się na obraz specyficznego zespołu chorobowego.

Diagnostyka laboratoryjna WT jest bardzo trudna, pracochłonna i kosztowna. Powinna być przeprowadzana dopiero po wykluczeniu innych, częściej występujących, defektów hemostazy pierwotnej (nabyte małopłytkowości, choroba von Willebranda, nabyte trombocytopatie). Dotychczas nie opracowano jednolitych algorytmów diagnostycznych. Badania przesiewowe w kierunku WT, takie jak czas krwawienia i czas okluzji badany w aparacie PFA-100, charakteryzują się małą swoistością i małą czułością w wykrywaniu łagodnych defektów płytek krwi i dlatego nie są powszechnie stosowane w diagnostyce tej grupy skaz krwotocznych. Do badań diagnostycznych WT należą: morfologia krwi z liczbą płytek, ocena rozmazu krwi, badania agregacji płytek i wydzielania ATP, badanie glikoprotein płytkowych metodą cytometrii przepływową, ocena płytek w mikroskopie elektronowym oraz badania genetyczne.

W zależności od rodzaju i ciężkości defektu płytek krwi oraz objawów klinicznych stosuje się różne metody leczenia. Krwawienia z nosa i śluzówek jamy ustnej udaje się zwykle zahamować za pomocą leków antyfibrynolitycznych i/lub miejscowych środków hemostatycznych. W przypadku braku skuteczności tej metody leczenia u pacjentów z ciężkimi defektami płytek należy przetestować koncentrat krwinek płytkowych (KKP), który jest podstawowym lekiem stosowanym w krwawieniach zagrażających życiu u chorych na WT. W leczeniu krwotocznych miesiączek skuteczne są leki hormonalne i/lub leki antyfibrynolityczne. Głównym problem u chorych na WT jest zapewnienie hemostazy w czasie inwazyjnych procedur, zabiegów operacyjnych, porodu i w innych krwawieniach pourazowych. Pacjenci z ciężkimi defektami płytek wymagają zwykle przygotowania do zabiegu za pomocą KKP, podczas gdy w większości przypadków łagodnych WT wystarczy stosowanie desmopresyny. U chorych na trombastenię Glanzmanna opornych na przetoczenia KKP z powodu aloimmunizacji lekiem z wyboru w ciężkich krwawieniach i dla osłony inwazyjnych zabiegów jest rekombinowany aktywny czynnik VII.

U wszystkich chorych na WT bardzo ważne jest postępowanie profilaktyczne. Zapobieganie krwawieniom obejmuje zakaz stosowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych, a zwłaszcza aspiryny u osób z ciężkimi WT, unikanie urazów, dbanie o higienę jamy ustnej z częstą kontrolą stomatologiczną oraz kontrolę krwawień miesiączkowych za pomocą leków hormonalnych. Wszyscy pacjenci z WT powinni być zaszczepieni przeciwko wirusowi zapaleniu wątroby typu A i B.

Substytuty krwinek płytkowych i żełe płytkowe

Magdalena Łętowska

Zakład Diagnostyki Hematologicznej i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Substytuty krwinek czerwonych

Koncentraty krwinek płytkowych (KKP) przygotowywane są od zdrowych dawców dwoma metodami (manualną z krwi pełnej i automatyczną — afereza), przechowywane w temperaturze pokojowej przez 5 dni (dopuszczalne jest przechowywanie do 7 dni w przypadku przeprowadzenia badań bakteriologicznych). W związku z tym, że w ostatnich latach stale wzrasta zapotrzebowanie na przetoczenia KKP, a także z uwagi na krótki czas i warunki przechowywania KKP, naukowcy zainteresowali się tak zwanymi „sztucznymi krwinkami płytkowymi”. Substancje alternatywne powinny wykazywać następujące cechy: brak immunogenności, odpowiednie działanie hemostatyczne utrzymujące się przez długi czas, być sterylne, łatwe w przechowywaniu, przygotowaniu i podaniu choremu. Do substytutów krwinek płytkowych należą:

1. pochodne krwinek płytkowych:
 - mrożone krwinki płytkowe (kriokonserwant DMSO, dodawanie inhibitorów aktywacji płytek);
 - schłodzone krwinki płytkowe (dodawanie inhibitorów wtórnej agregacji umożliwia wydłużenie przechowywania przez 9 dni w temp. 4°C);
 - liofilizowane krwinki płytkowe (zmniejszona ekspresja antygenów powierzchniowych i zwiększona wewnątrzkomórkowych, zwłaszcza selektyny);
 - mikrocząsteczki (mikropęcherzyki tworzące się z błony komórkowej w czasie przechowywania wykazują kilkugodzinną aktywność hemostaticzną; uzyskuje się je z zamrażanych rozmrażanych przeterminowanych krwinek płytkowych);
2. sztuczne krwinki płytkowe:
 - liposomy (wprowadzenie receptorów do błon komórkowych — tylko faza doświadczalna, liposomy „nośniki” fibrynogenu lub innych białek — stosowane tylko jako odczynniki do badań naukowych, liposomy anionowe wzmacniające formowanie skrzepu — nieudany projekt połączenia cz. Xa z liposomami bogatymi w aniony);
 - mikrosfery pokryte fibrynohemem (albuminowe kapsułki opłaszczane fibrynohemem, niestety obserwowano trudności w utrzymaniu jednakowej wielkości; Japończycy zamiast całej cząsteczki fibrynogenu zastosowali sekwencję AA z łańcucha γ ; badania na szczurach wykazały skrócenie czasu krwawienia);
 - tromboerytrocyty (erytrocyty pokryte peptydem zawierającym sekwencję RGD, odpowiedzialną za wiązanie fibrynogenu z aktywowanym receptorem GPIIb/IIIa, lub autologiczne erytrocyty pokryte fibrynohemem);
3. inne produkty:
 - płytki pozbawione antygenów HLA (usuwanie antygenów HLA niekorzystnie wpływa na jakość krwinek płytkowych);
 - hodowle megakariocytów (przygotowywane w warunkach *in vitro* z megakariocytów otrzymywanych w czasie zabiegów leukaferazy, autologiczne komórki progenitorowe, dla immunizowanych pacjentów).

Praktycznie wszystkie metody uzyskiwania skutecznych klinicznie i bezpiecznych substytutów krwinek płytkowych lub ich zmodyfikowanych pochodnych wymagają jako substancji wyjściowej krwinek płytkowych lub ich progenitorów. Prowadzone badania mogą przyczynić się raczej do opracowania technik, które umożliwią dłuższe przechowywanie krwinek płytkowych niż obecnie stosowane, z jednoczesnym zachowaniem ich własności funkcjonalnych i jakości. Substancje alternatywne muszą być bardziej efektywne w użyciu oraz bardziej bezpieczne niż te, które udało się opracować do tej pory. Rodzaje uzyskiwanych produktów są bardzo różnorodne, w związku

z tym należy określić kierunek badań. Celem jest produkcja preparatów: o długim terminie ważności, łatwych do użycia, bezpiecznych pod względem wirusologicznym i bakteryjnym. Prawdopodobnie technologia produkcji pozwoli na uzyskiwanie preparatów, które nie będą uniwersalne, ale będą miały zastosowanie u pacjentów z określonymi jednostkami chorobowymi. Należy też pamiętać, że koszty wytwarzania substytutów krwinek płytkowych są i będą zapewne wysokie.

Żele płytkowe

Po raz pierwszy w końcu lat 80. ubiegłego wieku Terranova i Wikesjö, po przeprowadzeniu badań *in vitro*, opisali zastosowanie autologicznego żelu płytkowego, wskazując na polipeptydowe czynniki wzrostu jako klasę naturalnych, biologicznych mediatorów regulujących wczesną proliferację, różnicowanie i syntezę wszystkich typów komórek odgrywających ważną rolę w gojeniu tkanek miękkich i twardych. W latach 1987–1989 Lynch i wsp. przeprowadzili pierwsze badania kliniczne na zwierzętach, które potwierdziły stymulujące działanie czynników wzrostu podczas gojenia ran, a w latach 90. XX wieku, dzięki rozwojowi technik izolacji składników krwi, rozpoczęto intensywne badania nad klinicznym zastosowaniem żelu płytkowego.

Żel płytkowy nakłada się na tkankę za pomocą dwóch strzykawków różniących się pojemnością, które zaopatrzone są w jeden wspólny tłok. W chwili aplikacji żelu, gdy jego składniki mieszają się ze sobą, aktywowane są krwinki płytkowe; w wyniku aktywacji dochodzi do uwalniania z ziarnistości gęstych i z ziarnistości- α wielu aktywnych terapeutycznie czynników wzrostu, które pełnią różne funkcje w procesie gojenia i rekonstrukcji tkanek. Do czynników wzrostu należą polipeptydowe czynniki wzrostu i różnicowania (GDFs, *polipeptide growth and differentiation factors*) — naturalnie występujące biologiczne mediatory, które odgrywają znaczącą rolę w procesie gojenia się ran; regulują zarówno proliferację, chemotaksję, jak i różnicowanie i metabolizm komórek. Stosowanie czynników wzrostu pochodzenia płytkowego ma na celu spotęgowanie fizjologicznej odpowiedzi, jaka zachodzi podczas gojenia się rany.

Poza tym substancje biologicznie czynne w ziarnistościach płytek (serotonina, katecholaminy oraz białka należące do grupy HPAPs [*human platelets antimicrobial peptides*]) wykazują działanie antybakteryjne (badania mikrobiologiczne *in vitro* wykazały aktywność tych białek w stosunku do *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans*).

Zastosowanie żelu płytkowego daje możliwość leczenia przewlekłych ran:

- przyspiesza gojenie ran i nacięć chirurgicznych (wskazany do stosowania w operacjach plastycznych ze szczególnym uwzględnieniem twarzy);
- stabilizuje przeszczepy tkanek miękkich;

- przyspiesza odbudowę kości (zastosowanie w chirurgii stomatologicznej i szczękowo-twarzowej);
- zmniejsza pooperacyjne krwawienie, obrzęk i stan zapalny;
- zmniejsza drenaż pooperacyjny.

Korzyści, jakie wynikają z zastosowania żelu płytkowego, to: skrócenie czasu wykonywania wielu zabiegów (zespoła chirurgicznych), szybsze i łatwiejsze opanowanie krwawień i zamykanie przetok, zmniejszenie utraty krwi w czasie operacji, zmniejszenie ilości przetoczeń składników krwi, poprawa bezpieczeństwa pacjenta, skrócenie czasu hospitalizacji (obniżenie kosztów leczenia).

Leki hemostatyczne

Andrzej Mital

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Leki hemostatyczne to preparaty, które wykazują wpływ na poszczególne elementy układu hemostazy. Najczęściej stosowane są w skazach krwotocznych jako terapia wspomagająca, ale w niektórych sytuacjach okazują się również skuteczne w monoterapii. Grupy leków hemostatycznych przedstawione są w tabeli 1.

Jedną z najczęściej stosowanych grup leków hemostatycznych stanowią preparaty hamujące fibrylizę. Zaliczamy tu syntetyczne analogi lizyny — kwas epsilon-aminokapronowy i kwas traneksamowy. Hamują one fibrylizę przez wiązanie się z plazminogenem, co w efekcie uniemożliwia przyłączenie się fibryny do plazminy. Główne wskazania do terapii lekami antyfibrynolitycznymi to nadmierne krwawienia miesiączkowe, krwawienia śluzówkowe w obrębie jamy ustnej, nosa we wrodzonych i nabytych zaburzeniach krzepnięcia, ekstrakcja zęba jako profilaktyka i leczenie w skazach krwotocznych i podczas leczenia doustnymi antykoagulantami, krwawienia w przebiegu małopłytkowości oraz krwawienia z przewodu pokarmowego.

Leki antyfibrynolityczne są przeciwwskazane w krwawieniach z dróg moczowych (ryzyko obturacji), niewydolności nerek, ostrych procesach zakrzepowo-zatorowych, przy równoczesnym stosowaniu aktywnych czynników zespołu protrombiny oraz w krwawieniach podpajęczynówkowych (ryzyko obkurczenia naczyń i udaru niedokrwiennego).

Leki te są najczęściej dobrze tolerowane, a do możliwych objawów niepożądanych zaliczamy zaburzenia ze

Tabela 2. Wskazania do stosowania DDAVP

Wrodzone zaburzenia hemostazy	Nabyte zaburzenia hemostazy
Hemofilia A — postać lekka	Mocznicza
Choroba von Willebranda — postać łagodna	Marskość wątroby
Trombocytopatie	Skaza polekowa (aspiryna, ticlopidyna) Zabiegi operacyjne

strony przewodu pokarmowego: nudności, wymioty, bóle brzucha, biegunki. Istnieje również ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych.

Innym lekiem hamującym układ fibrynolityczny jest aprotynina, która jest inhibitorem wielu proteaz serynowych: tripsyny, chymotrypsyny, plazminy, tkankowej i osoczowej kallikreiny. Mechanizm działania aprotyniny zależy od dawki. W przypadku zastosowania niskich dawek hamuje ona plazminę, przy wysokich dawkach — kallikreinę. Aprotynina stosowana była głównie w operacjach kardiochirurgicznych, przeszczepach wątroby i w zabiegach ortopedycznych. Obecnie lek ten stosowany jest rzadko. Do głównych objawów niepożądanych należą reakcje uczuleniowe, zakrzepica żylna i tętnicza. Istnieje również ryzyko choroby Creutzfeldta-Jakoba.

Lekiem antyfibrynolitycznym stosowanym od ponad 20 lat jest pochodna hormonu antydiuretycznego desmopresyna (DDAVP). Szczególnie istotne jest bezpieczeństwo stosowania — brak ryzyka zakażeń wirusowych oraz znacznie mniej działań ubocznych w porównaniu z wazopresyną. Mechanizm działania polega na wzroście uwolnienia zapasów czynników VIII i von Willebranda. DDAVP skraca czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) oraz czas krwawienia. Zwiększa również adhezję płytek krwi do śródbłonna. Wskazania do stosowania desmopresyny przedstawiono w tabeli 2.

Desmopresynę stosujemy dożylnie lub podskórnie w dawce 0,3 µg/kg lub donosowo 150 µg u dzieci, 300 µg u dorosłych. Najczęściej obserwowane działania niepożądane to, bóle głowy, zaczerwienienie twarzy, tachykardia, zawroty głowy, przewodnienie, hiponatremia, zakrzepica, lecz zwykle mają one łagodny charakter i szybko ustępują.

Kolejną grupą preparatów hormonalnych wykazującą działanie hemostatyczne są estrogeny. Zwiększają one

Tabela 1. Podział leków hemostatycznych

Grupa	Leki hamujące fibrylizę	Hormony i ich analogi	Inne
Przykłady	Kwas epsilon-aminokapronowy Desmopresyna (DDAVP) Aprotyninina	Kwas traneksamowy Estrogeny Erytropoetyna Estriol	Witamina K Witamina C Etamsylat rVIIa

aktywność czynników VII, VIII, X i von Willebranda oraz skracając czas krwawienia. Skuteczne są w przypadku nadmiernych krwawień miesiączkowych w chorobie von Willebranda i u nosicieli hemofilii A oraz w przypadku skazy w przebiegu mocznicy. Dostępne są w postaci tabletek, wkładek dopochwowych, wewnątrzmacicznych, ampulek. Należy zwrócić uwagę, że różny jest czas początku działania preparatów hormonalnych. DDAVP wykazuje się szybkim początkiem działania, a estrogeny i erytropoetyna — opóźnionym.

Jedną z najważniejszych witamin odgrywających rolę w układzie hemostazy jest witamina K. Jej rola polega na gamma-karboksylacji prekursorów czynników II, VII, IX, X oraz białka C i S. Źródło witaminy K to flora jelitowa (K2) i pokarmy roślinne (K1). Przyczyną niedoboru witaminy K mogą być brak lub obniżona synteza w przewodzie pokarmowym (antybiotykoterapia, brak flory jelitowej, żywienie parenteralne), zaburzone wchłanianie (choroby dróg żółciowych, zespół złego wchłaniania, leki) oraz antagonistyczne działanie antykoagulantów. Leczenie niedoboru witaminy K przy braku objawów skazy polega na podaniu 10 mg/dobę witaminy K dożylnie lub doustnie przy niedoborach dietetycznych. W przypadku jawnej klinicznie skazy krwotocznej poza substytucją witaminy K należy podać koncentrat czynników zespołu protrombiny lub świeżo mrożone osocze.

OPISY PRZYPADKÓW

Fibrynogen Kraków

Joanna Zdziarska

Katedra i Klinika Hematologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Collegium Medicum w Krakowie

Dwudziestoletnia kobieta została skierowana do Poradni Hematologicznej w 12. tygodniu pierwszej ciąży z powodu małopłytkowości ($77\ 000/\mu\text{l}$). U pacjentki nie występowały nigdy objawy krwotoczne, jednak w 16. roku życia po operacji usunięcia wyrostka robaczkowego doszło do zakrzepicy żył głębokich. W wywiadzie rodzinnym zwracała uwagę umiarkowana małopłytkowość u licznych członków rodziny. U syna siostry doszło do wylewu śródczaszkowego w pierwszych dobach po urodzeniu. U żadnego innego członka rodziny nie występowały objawy krwotoczne ani zakrzepowe. Wywiad rodzinny w kierunku poronień był dodatni (dwa poronienia u jednej z siostr, jedno u ciotki).

W wykonanych badaniach laboratoryjnych stwierdzono makrotrombocytopenię (wykluczono zespół Bernarda-Souliera, typ 2B i typ płytkowy choroby von Willebranda) oraz przedłużenie czasu trombinowego przy prawidłowej wartości APTT i PT. Aktywność fibrynogenu była obniżona do $0,62\ \text{g/l}$ (metoda Claussa, norma $1,8\text{--}3,5\ \text{g/l}$), a jego stężenie do $1,12\ \text{g/l}$ (metoda nefelometryczna, norma $1,8\text{--}3,5\ \text{g/l}$). Stosunek aktywności do stężenia fibry-

nogenu wynosił $0,53$. Postawiono rozpoznanie wrodzonej makrotrombocytopenii oraz dysfibrinogenemii z tendencją do nadkrzepliwości. Aktywność i stężenie fibrynogenu w ciąży rosły, osiągając w 25. tygodniu odpowiednio $1,18\ \text{g/l}$ i $1,79\ \text{g/l}$. Poród przebiegł bez powikłań, pacjentka nie wymagała podawania preparatów zawierających fibrynogen. W okresie połogu zalecono heparynę drobnocząsteczkową w dawce profilaktycznej.

Analiza skrzepu fibrynowego wykazała upośledzenie polimeryzacji fibryny, zmniejszoną przepuszczalność skrzepu i przedłużenie czasu jego lizy. Analiza molekularna ujawniła heterozygotyczną mutację punktową w egzonie 8 genu kodującego łańcuch gamma (gAsn325Ile), której nie opisano dotychczas w piśmiennictwie. Nowy dysfibrinogen nazwano „fibrynogenem Kraków”. Opis przypadku opublikowano w czasopiśmie *Thrombosis and Haemostasis* [Undas A., Zdziarska J., Iwaniec T. i wsp. *Fibrinogen Krakow: A novel hypo/dysfibrinogenemia mutation in fibrinogen gamma chain (Asn325Ile) affecting fibrin clot structure and function. Thromb. Haemost.* 2009; 101 (5): 975–976].

Hipofibrinogenemia wrodzona (fibrynogen Poznań)

Lucyna Malendowicz-Portala, Aleksandra Regdos

Oddział Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hemostazy i Genetyki Szpitala im. Józefa Strusia w Poznaniu

Odkryto nową mutację nonsensowną w 4. egzonie genu $\text{FGG c.331A>T p.Lys11X}$ (Lys85X bez peptydu sygnałowego), zidentyfikowaną w postaci heterozygotycznej u trzech członków polskiej rodziny. Mutacja ta powoduje hipofibrinogenemię oraz skłonność do łagodnych epizodów krwotocznych u dwóch z trzech nosicieli.

Dwudziestopięcioletni mężczyzna został przyjęty do celu przeprowadzenia badań ze względu na pojawiające się od urodzenia łagodne epizody krwotoczne. Stężenie fibrynogenu mierzone metodą immunonefelometryczną wynosiło $1,12\ \text{g/l}$ ($\text{N } 1,8\text{--}3,5\ \text{g/l}$), a mierzone metodą Claussa — $1,0\ \text{g/l}$ ($\text{N } 2,0\text{--}4,0\ \text{g/l}$). Czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) oraz czas protrombinowy (PT) były w normie, podczas gdy czas trombinowy (TT) był wydłużony do $21,1\ \text{s}$ ($\text{N } 10\text{--}17,5\ \text{s}$). Liczba płytek krwi i testy oceniające czynność wątroby pozostawały w granicach normy.

Wywiad rodzinny: u 18-letniego brata pacjenta zanotowano przedłużone krwawienie po ekstrakcji zęba. Stężenie fibrynogenu mierzone metodą immunonefelometryczną było obniżone do $1,37\ \text{g/l}$, a badane metodą Claussa wynosiło $1,0\ \text{g/l}$, TT wynosił $23,6\ \text{s}$. U rodziców pacjentów, ich siostry oraz jej dwójki dzieci nie zanotowano epizodów krwotocznych, a wyniki ich badań krzepnięcia były prawidłowe.

Za pomocą reakcji PCR oraz sekwencjonowania przeanalizowano wszystkie egzony oraz granice intron-egzon w genach FGA, FGB i FGG. Zidentyfikowano nową nonsensowną mutację w 4. egzonie genu FGG c.331A>T

p.Lys111X (Lys85X w dojrzałym łańcuchu bez peptydu sygnałowego) występującą w postaci heterozygotycznej u dwóch braci z obniżonymi stężeniami fibrynogenu („fibrinogen” Poznań). Zwraca uwagę fakt, że pomimo prawidłowego stężenia fibrynogenu, ojciec jest także heterozygotą dla mutacji Lys111X (Lys85X). Prawidłowe stężenie fibrynogenu może być w tym przypadku spowodowane odmienną ekspresją alleliczną, będącą szeroko rozpowszechnionym fenomenem wpływającym na ekspresję około 20% ludzkich genów.

Mutacja „fibrinogen Poznań” powoduje powstanie poważnie skróconego łańcucha γ fibrynogenu, z brakującą częścią domeny superheliks, która jest niezbędna do prawidłowego formowania cząsteczki fibrynogenu i tworzenia heksameru oraz z brakującą globularną domeną C-końcową białka. Kotransfekcja cDNA zmutowanego genu FGG wraz z prawidłowym cDNA genów FGA i FGB w komórkach COS i późniejsza analiza Western-blot wykazały, że mutanty nie są zdolne do tworzenia prawidłowej struktury funkcjonalnego heksameru fibrynogenu, ponieważ nie wykryto heksamerów ani w komórkach, ani w pożywce.

Przebieg ciąży i porodu u kobiety z rozpoznaniem zespołu Upshawa i Schulmana

Ewa Stefańska-Windyga

Klinika Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Wrodzony niedobór metaloproteiny ADAMTS-13 (USS, zespół Upshawa i Schulmana) jest rzadko spotykaną chorobą, charakteryzującą się małopłytkowością współistniejącą z niedokrwistością hemolityczną oraz skłonnością do zakrzepicy w drobnych naczyniach (pacjenci najczęściej doznają przemijającego niedokrwienia mózgu, udaru niedokrwienego mózgu, obserwuje się cechy ostrej niewydolności nerek). Leczenie USS polega na uzupełnianiu niedoboru enzymu przez regularne przetoczenia świeżo mrożonego osocza (FFP). Niedobór ADAMTS-13 u kobiet wiąże się dodatkowo z powikłaniami położniczymi. Badania opublikowane przez Fujimurę i wsp. w 2008 roku wskazują, że połowa ciąż u pacjentek z zespołem Upshawa i Schulmana kończy się niepowodzeniem.

W marcu 2008 roku do Poradni Zaburzeń Hemostazy Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie zgłosiła się 28-letnia pacjentka z USS w 13. tygodniu pierwszej ciąży. Pierwszy epizod małopłytkowości i niedokrwistości hemolitycznej wystąpił u niej w 11. miesiącu życia. Przez kolejne 15 lat chora wielokrotnie wymagała hospitalizacji z powodu nawrotów małopłytkowości i niedokrwistości hemolitycznej, które wiązano zwykle z infekcjami, stosowanymi lekami lub błędami dietetycznymi. W leczeniu stosowano kortykosteroidy oraz wielokrotnie przetoczenia koncentratu krwinek czerwonych (KKCz). Tylko jeden raz, z powodu nasilenia objawów skazy skórno-śluzówkowej, pacjentce podano koncentrat

krwinek płytkowych. Od 16. roku życia chora miała okresowo wykonywane badania kontrolne, ale nie wymagała leczenia hematologicznego, gdyż nie obserwowano małopłytkowości ani niedokrwistości hemolitycznej. Rozpoznanie zespołu Upshawa i Schulmana ustalono dopiero w 2006 roku, na podstawie obniżonej aktywności ADAMTS-13 przy braku przeciwciał neutralizujących enzym oraz badań genetycznych, które potwierdziły wrodzony charakter choroby (obecna mutacja 4143insA w genie ADAMTS-13). Chorej zalecono wówczas wykonywanie regularnych badań morfologii krwi i badań biochemicznych, a w przypadku zajścia w ciążę — ścisły nadzór ginekologiczny i konsultację hematologiczną. Pacjentka do 10. tygodnia ciąży pozostawała pod opieką ginekologa i lekarza rodzinnego, czuła się dobrze, wyniki badań morfologii krwi były prawidłowe (Hb > 12 g/dl, liczba płytek > 300 000/ μ l). W 13. tygodniu ciąży pojawiła się nagle głęboka małopłytkowość (liczba płytek 29 000/ μ l) i niedokrwistość hemolityczna (Hb 8,9g/dl, stężenie bilirubiny 5,85 mg/dl, podwyższona wartość LDH, wysoka retikulocytoza). Nie występowały cechy skazy skórno-śluzówkowej ani objawy neurologiczne, nie obserwowano uszkodzenia wątroby i nerek. Pacjentka wymagała hospitalizacji, w czasie której przetoczono 18 j. FFP, uzyskując w ciągu 5 dni normalizację wartości płytek krwi (wzrost do 214 000/ μ l) oraz wzrost stężenia hemoglobiny (10 g/dl). Chorą wypisano do domu w stanie dobrym i zalecono wykonywanie badań kontrolnych co tydzień. Opierając się na doniesieniach piśmiennictwa zaplanowano regularne przetoczenia świeżo mrożonego osocza co 2 tygodnie przez cały okres ciąży, w dawkach umożliwiających utrzymanie płytek krwi powyżej 100 000/ μ l. Do 27. tygodnia ciąży pacjentka co 12–15 dni otrzymywała 6 ml świeżo mrożonego osocza/kg mc., a następnie, z powodu pogłębienia małopłytkowości i słabszej odpowiedzi na leczenie, dawkę osocza zwiększono do 10 ml/kg mc. Dodatkowo, ze względu na wysoką zawartość antygeny czynnika von Willebranda i kofaktora ristocetyny w osoczu, od 21. tygodnia ciąży włączono chorej heparynę drobnocząsteczkową w dawce profilaktycznej. W 37. tygodniu ciąży wystąpiło nasilenie małopłytkowości (liczba płytek 25 000/ μ l), niedokrwistość oraz znaczne podwyższenie stężenia bilirubiny (2,82 mg/dl); uzyskano tylko niewielką poprawą parametrów morfologicznych i biochemicznych po podawaniu FFP według dotychczasowego schematu. Pacjentka wymagała intensyfikacji leczenia substytucyjnego — otrzymywała codziennie 2 j. FFP (ok. 5ml/kg mc.) do czasu porodu. Ciążę zakończono w 39. tygodniu cięciem cesarskim (z przyczyn ginekologicznych), bez powikłań. Po porodzie obserwowano samoistną normalizację liczby płytek (wzrost do 210 000/ μ l) i pacjentkę w stanie dobrym wypisano do domu. Niestety po 4 tygodniach chora zagorączkowała z powodu zapalenia gruczołu sutkowego. Po 3 dniach utrzymywania się gorączki wystąpił nawrót małopłytkowości i niedokrwistości hemolitycznej. Przez następne 6 miesięcy chora wymagała regularnych przetoczeń FFP co 4–6 tygodni. Le-

czenie zakończono w marcu 2009 roku, aktualnie obraz morfologii krwi prawidłowy.

Chociaż rozpoznanie USS predysponuje do utrat ciąży, systematyczne podawanie FFP w dawkach wzrastających wraz z rozwojem ciąży oraz heparyny drobnocząsteczkowej w dawkach profilaktycznych zapewniło w opisanym przypadku sukces położniczy.

Rodzina z zespołem Upshawa i Schulmana

Lucyna Malendowicz-Portala, Aleksandra Regdos

Oddział Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hemostazy i Genetyki Szpitala im. Józefa Strusia w Poznaniu

Pacjent, lat 21, przyjęty w maju 2008 roku na Oddział Chorób Wewnętrznych i Hematologii Szpitala im. Józefa Strusia w Poznaniu z podejrzeniem zakrzepowej płamicy małopłytkowej.

W wywiadzie od 2. roku życia nawracające objawy skazy krwotocznej, niedokrwistość, małopłytkowość, okresowo leczony steroidami. W grudniu 2007 roku (szpital w Słupcy) uraz głowy, niedokrwistość, małopłytkowość, włączono enorton w dawce 2 mg/kg mc. W marcu 2008 roku (szpital w Koninie) objawy neurologiczne; w NMR głowy zmiana niedokrwieniowa w okolicy czołowo-ciemieniowej lewej 35 × 25 × 25 mm, mierna niedokrwistość, małopłytkowość, wskaźniki hemolizy, mielogram — odczyn erytroblastyczny, liczne megakariocyty — podejrzenie zespołu Evansa, włączono Metypred. W kwietniu 2008 roku (szpital w Koninie i Łodzi) ostra niewydolność nerek (kreatynina 3,42–1,85 mg/dl, białkomocz), obrzęk płuc, napadowe migotanie przedsionków, zaburzenia widzenia (w TK głowy świeża zmiana niedokrwieniowa w płacie ciemiieniowym lewym o śr. ok. 5 cm), niedokrwistość, małopłytkowość — podejrzenie wrodzonego zespołu hemolityczno-mocznicowego, podano steroidy, FFP (30 j.), KKCz (4 j.), KKP (10 j.), wykonano 7 zabiegów plazmaferezy. W maju 2008 roku (szpital w Koninie) niedokrwistość, małopłytkowość, wykładniki hemolizy, podejrzenie zakrzepowej płamicy małopłytkowej.

Wywiad rodzinny: siostra — objawy skazy krwotocznej, małopłytkowość, niedokrwistość od 6. roku życia; w 12. roku życia splenektomia, w 13. roku życia usunięcie śledziony dodatkowej, w 19. roku życia ciąża bliźniacza — w 7. miesiącu krwiomocz i spadek liczby płytek — zgon matki i bliźniąt. Druga siostra — objawy skazy krwotocznej, małopłytkowość i niedokrwistość od 2. roku życia. Rodzice, brat — zdrowi.

Podczas hospitalizacji na tutejszym oddziale: HbB — 5,5–6,1 mmol/l, PLT — 26 000/μl–64 000/μl, narastające stężenie kreatyniny (172–417 mg/dl), cechy hemolizy mikroangiopatycznej. Oznaczono stężenie i aktywność ADAMTS-13 — 0% (n: 50–150), inhibitor ujemny. Rozpoznano **wrodzoną zakrzepową płamicę małopłytkową** i zalecono przetaczanie 600 ml FFP co 3 tygodnie.

Tabela 1. Badanie żyjących członków najbliższej rodziny pacjenta z zespołem Upshawa i Schulmana

	Aktywność ADAMTS-13	Antygen ADAMTS-13	Inhibitor ADAMTS-13
Siostra pacjenta	< 2%	0%	Ujemny
Brat pacjenta	72,16%	38,37%	Ujemny
Matka pacjenta	85,77%	31,85%	Ujemny
Ojciec pacjenta	85,77%	43,75	Ujemny

Przebadano też członków najbliższej rodziny (tab. 1).

W ostatnich dniach okazało się, iż siostra pacjenta jest w 2. miesiącu ciąży, zalecono: przetaczanie FFP w dawce 10 ml/kg mc. co 14 dni, ASA 150 mg/dobę, intensywny nadzór hematologa i ginekologa, morfologia krwi co 2 tygodnie.

Wyizolowano DNA pacjenta, jego rodzeństwa oraz rodziców i przeprowadzono analizę sekwencji genu kodującego enzym ADAMTS-13 — metaloproteinazę rozcinającą wiązanie peptydowe Tyr1605-Met1606 w multimerach czynnika von Willebranda. U wszystkich badanych osób wykryto obecność mutacji 4143insA, która występuje w 29. egzonie genu ADAMTS-13 i powoduje skrócenie białka o 49 aminokwasów. Skutkuje to poważnym niedoborem enzymu (< 5%) przy jednoczesnym braku inhibitorów.

Odkryta mutacja dziedziczy się autosomalnie recesywnie, stąd najczęściej występuje ona w rodzinach, w których dopuszczalne są małżeństwa między osobami blisko spokrewnionymi. Do tej pory wykryto ją u 15 osób z Europy Północnej i Europy Środkowej. U pacjenta i jego siostry mutację 4143insA zidentyfikowano w postaci homozygotycznej, natomiast u brata i rodziców pacjenta — w postaci heterozygotycznej.

Nadpłytkowość u dziecka leczona anagrelidem

Paweł Łąguna

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

W kwietniu 2002 roku przyjęto do kliniki 12-letnią dziewczynkę w celu diagnostyki bólów brzucha. Dolegliwości miały zmienną lokalizację i występował od tygodnia. Nie towarzyszyła im gorączka, wymioty ani biegunka. W rodzinie ojca dziecka, babcia i jej siostra chorują na nadpłytkowość pierwotną (NS). Przy przyjęciu do kliniki stan ogólny dziewczynki był dobry. Z odchyień od stanu prawidłowego w badaniu przedmiotowym stwierdzono: tkli-

wość brzucha przy badaniu palpacyjnym, powiększenie śledziony + 2 cm. W badaniach laboratoryjnych zwracała uwagę podwyższona liczba płytek 1979 000/ μ l. Na podstawie wyników biopsji szpiku, trepanobiopsji i badań dodatkowych (tj. OB, CRP, ASO, rozmazu krwi, czynnika reumatoidalnego, braku chromosomu Ph) wykluczono chorobę nowotworową, choroby zapalne tkanki łącznej i inne przewlekłe procesy zapalne. Wobec powyższego rozpoznano NS. W związku z utrzymującą się wysoką liczbą płytek włączono do leczenia anagrelid w dawce $2 \times 0,5$ mg. Po 3 miesiącach leczenia anagrelidem w dawce jw. nie uzyskano oczekiwanego efektu terapeutycznego (płytki 1 000 000 γ l). Wobec tego dawkę leku zwiększono do 1,5 mg, uzyskując jedynie niewielki spadek płytek krwi. W kolejnych tygodniach dawkę leku zwiększono dwukrotnie, to znaczy 3 mg, co spowodowało spadek płytek do 6 000 000 γ l. W lutym 2004 roku ze względu na problemy z zakupem leku przerwano jego podawanie. Po dwóch tygodniach od zaprzestania kuracji liczba płytek wzrosła do 1110 000 γ l. W tym okresie wystąpił epizod bólu podudzia prawego. W badaniu USG opisano niewydolność zastawek żył odpiszczelowych obu kończyn dolnych. Biorąc pod uwagę chorobę zasadniczą, włączono leczenie przeciwzapalne: drobnocząsteczkową heparynę i przeciwzapalne. Po 5 dniach terapii ból całkowicie ustąpił. Po 3 tyg. ponownie włączono lek, uzyskując stopniowo normalizację liczby płytek krwi. Ustalono dawkę anagrelidu na 2 mg. Nie obserwowano niepożądanych objawów klinicznych stosowanego leku. W badaniach biochemicznych wskaźniki czynności nerek i wątroby były prawidłowe. W morfologii krwi obwodowej poza niewielkim okresowym obniżeniem Hb nie stwierdzano nieprawidłowości. W kilkakrotnie w ciągu 6 lat wykonanym mielogramie występowały zmiany w postaci hipoplazji układu czerwonekrwinkowego oraz powtarzające się w różnych okresach leczenia odmłodzenie granulocytów do formy promielocyta, a nawet dwukrotnie do mieloblasta. Odstawienie leku na trzy tygodnie wpłynęło na znaczny wzrost odsetka układu czerwonekrwinkowego w szpiku, we krwi obwodowej wzrostu płytek do wartości wyjściowej przed podaniem leku w granulocytach nie stwierdzono przesunięcia do form młodych komórek. Badania EKG i ECHO serca nie wykazały nieprawidłowości. Anagrelid był skutecznym i bezpiecznym lekiem u dziewczynki chorej na NS.

Rodzinna trombocytopatia — opis przypadku

Joanna Zdziarska

Katedra i Klinika Hematologii Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego, w Krakowie

W 2007 roku do Poradni Hematologicznej zgłosiła się 47-letnia kobieta z bardzo znamienym wywiadem krwotocznym (liczne objawy śluzówkowe, krwawienia z nosa,

dziąseł, krwotoczne miesiączki, silny krwotok po usunięciu macicy i jajnika z powodu endometriozy). Wywiad rodzinny również był dodatni: u 25-letniej córki występowały krwawienia z dziąseł i krwotoczne miesiączki, a po usunięciu migdałka doszło do krwotoku; 20-letnia córka skarżyła się na częste krwawienia z dziąseł, a 23-letni syn na uciążliwe krwawienia śluzówkowe (z nosa i dziąseł oraz przedłużone krwawienie po ekstrakcji zęba). U ojca występowały silne krwotoki po ekstrakcji zębów oraz krwawienia z żyłaków przetyku, a u dwóch siostr krwotoki po porodach.

U pacjentki podejrzewano wcześniej chorobę von Willebranda, jednak stężenie czynnika von Willebranda pozostawało na granicy normy. Badania podstawowe układu hemostazy (APTT, PT, aktywność fibrynogenu, liczba płytek) nie wykazały odchyień. Aktywność czynnika XI była prawidłowa. Stwierdzono osłabienie agregacji płytek pod wpływem adrenaliny do 10% normy, podczas gdy agregacja pod wpływem pozostałych agonistów (ADP, ristocetyny, kolagenu, kw. arachidonowego) była prawidłowa. Wielkość i morfologia płytek w rozmazie krwi obwodowej były prawidłowe. U wszystkich dzieci również stwierdzono osłabienie agregacji płytek pod wpływem adrenaliny (do 10%, 10% i 30%). Pozostałe badania układu hemostazy nie wykazały odchyień, u jednej z córek i syna stwierdzono jedynie wydłużenie czasu okluzji w aparacie PFA-100. U wszystkich czterech członków rodziny rozpoznano wrodzoną trombocytopatię. Zalecono stosowanie leków antyfibrynolitycznych w razie krwawień śluzówkowych, w przypadku poważniejszych krwawień desmopresyny w postaci dożyłnej, a w stanach zagrożenia życia rozważenie przetoczenia koncentratu krwinek płytkowych. U jednej z córek wykonano test odpowiedzi na desmopresynę, uzyskując korekcję przedłużonego czasu okluzji (przed lekiem PFA-100 Col/Epi 236 s (n. 85–165 s), Col/ADP 145 s (n. 71–118 s), po leku Col/Epi 168 s, Col/ADP 58 s).

Opisane zaburzenia w badaniach hemostazy pierwotnej mogą odpowiadać wrodzonemu defektowi receptora adrenergicznego lub skazie płytkowej Quebec.

Naczyniowa skaza krwotoczna w przebiegu mięsaka histiocytarnego

Wojciech Sydor

Oddział Kliniczny Kliniki Alergii i Immunologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

We wrześniu 2008 roku do Kliniki Alergii i Immunologii Collegium Medicum UJ przeniesiono z Oddziału Reumatologii 56-letniego pacjenta z podejrzeniem guzkowego zapalenia naczyń. Przed 14 laty chorego skutecznie leczono z powodu nasieniaka jądra prawego (orchiektomia, a następnie radioterapia przestrzeni zaotrzewnowej). Przez kolejne lata pacjent nie wymagał żadnej terapii.

W lipcu 2008 roku chory zgłosił się do lekarza rejonowego z powodu niewielkiego krwiaka podudzia, którego pojawienie się wiązało z nadwyrężeniem kończyny. Po kilkunastu dniach pojawiły się obrzęk lewej nogi, śródstopia i ból w okolicy podstawy lewego palucha, a następnie guzy o średnicy 2–3 cm w obrębie mięśni łydek i ud. Z czasem w okolicy tych zmian zaczęły pojawiać się wybroczyny krwawe. Chorego skierowano do chirurga, który dwukrotnie wykonał punkcję guza nogi, każdorazowo odsysając wyłącznie zhemolizowaną krew.

Przy przyjęciu do Kliniki Alergii i Immunologii pacjent skarżył się na osłabienie oraz silne bóle stóp. Od lipca do września stracił kilka kilogramów masy ciała. Nie gorączkował. W badaniu fizykalnym zwracały uwagę liczne zmiany guzowate z towarzyszącymi wybroczynami zlokalizowane tylko na kończynach dolnych oraz znaczne zaniki mięśni ud i podudzi. Na tętnicy powierzchownej stopy kończyny dolnej prawej oraz tętnicy piszczelowej tylnej stopy tętno było niewyczuwalne.

W badaniach laboratoryjnych stwierdzono między innymi podwyższone OB i CRP (odpowiednio 56 mm/h i 31 mg/l) oraz istotną niedokrwistość normocytarną (Hb 7,8 g/dl) z cechami nasilonej hemolizy (LDH 1002 U/l, retikulocytoza 47 promili, w rozmazie krwi obwodowej liczne fragmentocyty).

W diagnostyce różnicowej uwzględniano między innymi zapalenie naczyń (obraz histopatologiczny wycinka skóry i tkanki podskórnej bez cech *vasculitis*, ujemne ANCA i anty-PR-3/MPO, brak krioglobulin), skazę krwotoczną osoczową i płytkową (prawidłowe czasy krzepnięcia, prawidłowa aktywność czynników krzepnięcia i test korekcji, prawidłowa liczba i agregacja płytek z arachidonianem sodu, ADP, epinefryną, kolagenem i ristocetyną) oraz wznowę *seminoma* lub inny proces nowotworowy (liczne konsultacje specjalistyczne, prawidłowe badania obrazowe i endoskopowe). Wykonano badania obrazowe naczyń (angio-TK, a następnie angiografię miednicowo-kończynową), w których nie uwidoczniło się miejsc krwawienia; stwierdzono natomiast zmiany zakrzepowe w dolnym odcinku aorty brzusznej, tętnicy nerkowej dolnej, gałęzi tętnicy strzałkowej, tętnicach stopy oraz amputację tętnicy nerkowej dolnej z niedokrwieniem dolnego bieguna nerki. Wykonano diagnostykę w kierunku nadkrzepliwości krwi — nie stwierdzono antykoagulantu toczeniowego, przeciwciał antykardiolipinowych i przeciw B₂-glikoproteinie I. Stwierdzono natomiast cechy wtórnego zespołu Moschcowitza (steż. ADAMTS-13: 9,64% [N: 50–150], akt. ADAMTS-13: 24,96%, inhibitor nieobecny). Wdrożono leczenie enoksaparyną w dawce pośredniej, uzyskując powrót prawidłowego ukrwienia stóp

i ustąpienie ich bólu. Z uwagi na dominującą anemię hemolityczną na tle mikroangiopatii o niejasnej etiologii zdecydowano o rozpoczęciu leczenia immunosupresyjnego cyklofosfamidem podawanym dożylnie w pulsach.

Po 10 dniach od wypisu chory zgłosił się ponownie do szpitala z objawami nasilonej anemii i hemolizy. Pojawiły się nowe wylewy krwawe i guzy o innej niż poprzednio morfologii. Z powodu silnych bólów kostnych wykonano RTG kości długich kończyn dolnych i kości miednicy, stwierdzając liczne, drobne ogniska lityczne. Pobrano biopstat z nowej zmiany guzowatej zlokalizowanej na skórze brzucha. W badaniu histopatologicznym stwierdzono elementy zhemolizowanej krwi, duże, silnie CD31 dodatnie komórki o polimorficznych jądrach, dość liczne histocyty (CD68+) i miernie liczne komórki SMA pozytywne. Obraz histologiczny odpowiadał proliferacji komórek śród-błonka, najprawdopodobniej o charakterze odczynowym (*reactive angioendotheliomatosis/diffuse dermal angiomatosis* wg WHO). Z uwagi na nieprawidłowy obraz krwi obwodowej (cechy odmłodzenia) wykonano także trepanobiopsję szpiku, w której stwierdzono wyłącznie obraz anemii hemolitycznej. Kontynuowano podawanie cyklofosfamidem i metylprednizolonem w pulsach, wykonano także dwa zabiegi plazmaferezy (po drugim zabiegu doszło niestety do silnego krwawienia do uda), przetaczano immunoglobuliny. Co 2 dni choremu przetaczano po kilka jednostek koncentratu krwinek czerwonych z powodu progresji anemii.

Po dwóch miesiącach na Oddziale Hematologii i Transplantologii Szpiku SPSK w Katowicach powtórzo- no trepanobiopsję szpiku. Stwierdzono liczne nacieki z komórek polimorficznych o fenotypie komórek histiocytarnych. Na tej podstawie rozpoznano mięsaka histiocytarnego. Podjęto leczenie winblastyną i cyklosporyną oraz steroidami. Niestety po 4 tygodniach pacjent zmarł z powodu niewydolności oddechowo-kръżeniowej.

Mięsak histiocytarny jest bardzo rzadką chorobą należąca do grupy histocytoz. Jest on nowotworowym rozrostem komórek morfologicznie i immunofenotypowo (CD 163 i 68+) zbliżonych do dojrzałych histocytów. Chorują zarówno dzieci, jak i dorośli, najczęściej dorośli mężczyźni (mediana wieku 52 lata). Etiologia nie jest znana. Lokalizacja zmian jest najczęściej pozawęzłowa i dotyczy przewodu pokarmowego, skóry, tkanek miękkich. Chorobie dość rzadko towarzyszą objawy ogólne (zwykle gorączka, utrata masy ciała). Morfologicznie to najczęściej pojedynczy guz, czasami stwierdza się także hepatosplenomegalię, pancytopenię, zmiany lityczne w kościach. Mięsak histiocytarny źle odpowiada na leczenie. Rokowanie jest bardzo złe.