

## KVALITATIVNI I KVANTITATIVNI POREMEĆAJI TROMBOCITA

ANA PETROVIĆ GLUŠČIĆ<sup>1</sup>

*Ovaj članak donosi iscrpan pregled poremećaja funkcije i broja trombocita. Također, članak pruža objašnjenja fizioloških mehanizama važnih za razumijevanje i adekvatno kliničko prosuđivanje pri dijagnostici, liječenju i praćenju pacijenata s poremećajem trombocita.*

Deskriptori: TROMBOCITI, TROMBOCITOPATIJA, TROMBASTENIJA, TROMBOCITOPENIJA, TROMBOCITOZA, KRVARENJA

### Trombociti

#### Trombopoeza i kinetika trombocita

Trombociti nastaju iz megakariocita, velikih poliploidnih stanica koštane srži (1). Megakariociti nastaju iz multipotentnih matičnih hematopoetskih stanica (1). U tradicionalnom modelu trombopoeze, iz multipotentnih matičnih stanica nastaju zajedničke praroditeljske stanice za megakariocite i eritroidnu lozu- megakariocitni i eritroidni prekursori (MEP), koje se pod utjecajem trombopoetina (TPO) ciljano diferenciraju u prekursorske stanice za megakariocite nazvane megakaryocyte colony-forming cells (Meg-CFC) (1). Meg-CFC najprije prolazi kroz seriju mitozama, stvarajući tako koloniju stanica, nakon čega stanice potomci prestaju s mitozama i započinju endomitozu, proces u kojem se nastavlja replikacija DNA, ali nema diobe jezgri citokineze. Na taj način nastaju megakariociti, poliploidne stanice koje sadrže 2 do 32 puta po normalan diploidni broj kromosoma (4-64 N), u jedinstvenoj

lobuliranoj jezgrinoj ovojnici (1). Ploidija je važan čimbenik u trombopoezi, jer više poliploidni megakariociti daju više trombocita, a smatra se da megakariociti koji imaju manje od 8N kromosoma ne mogu stvarati trombocite (1). Slijedi sazrijevanje citoplazme, čime megakariociti postaju morfološki prepoznatljivi, te kroz endotelne stanice koje oblažu sinusoidne kapilare koštane srži šalju pseudopodije sa kojih "pupaju" izdanci - protrombociti. Protrombociti bivaju otpušteni u krvotok, a potom naseljavaju plućni krvožilni bazen gdje se iz njih formiraju trombociti (1, 2). Smatra se da se čak 50% trombocita konačno formira u plućima (2). Jedan megakariocit proizvede 1000-3000 trombocita, a za razvoj trombocita iz Meg-CFC treba 5-7 dana (1).

Od transkripcijskih i unutarstaničnih čimbenika važnih za diferencijaciju megakariocita treba izdvojiti GATA-1, te RUNX1, FLI1, GFI1b i ETV6, čije su mutacije opisane kod nekih pacijenata s nasljednim poremećajima broja i funkcije trombocita, a mutacije nekih od njih predstavljaju i poznatu nasljednu predispoziciju za mijelodisplazije i leukemije (3). Od akademskog je značaja spomenuti i transkripcijski čimbenik NF-E2, te posebnu vrstu mikro RNA regulacijske molekule, mi150 koja usmjerava diferencijaciju tih stanica u megakariocite, a njezina je ekspresija potaknuta trombopoetinom (1).

Nedavno je predložen i novi model megakariopoeze, koji pretpostavlja da megakariociti nastaju direktno iz subpopulacije matičnih hematopoetskih stanica koje su predodređene za diferencijaciju u megakariocitnu lozu, zaobilazeći stadij zajedničkih prekursorskih stanica (4).

Glavni regulator trombopoeze je trombopoetin (TPO), humoralni čimbenik kojeg sintetizira dominantno jetra, a koji vežući se na svoj receptor c-mpl na megakariocitima, djeluje pozitivno na sve stadije rasta, diferencijacije i sazrijevanja megakariocita, osim na otpuštanje protrombocita (1). U unutarstaničnom prijenosu signala receptora za TPO važna je kinaza JAK 2. Najprominentniji je učinak TPO na povećanje ploidije megakariocita (1). TPO potiče i ekspanziju zajedničkih prekursorskih stanica, kao i multipotentnih hematopoetskih matičnih stanica (1).

Proizvodnja trombopoetina u jetri je konstantna, osim ako nije smanjena zbog bolesti jetre. Cirkulirajući trombociti (a možda u manjoj mjeri i megakariociti) pomoću svog c-mpl receptora uklanjaju trombopoetin iz cirkulacije, pa je pri urednoj ukupnoj masi trombocita u cirkulaciji prisutna samo bazalna koncentracija trombopoetina koja osigurava toliki poticaj rasta megakariocita koliki je potreban za nadomještanje starih ili "utrošenih" trombocita (1). U slučaju

<sup>1</sup>Zavod za dječju hematologiju i onkologiju, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb

Adresa za dopisivanje:  
Ana Petrović Gluščić, dr. med., Subspecijalist pedijatrijske hematologije i onkologije  
Zavod za dječju hematologiju i onkologiju, KBC Zagreb  
10000 Zagreb, Kišpatićeva 12  
E-mail: apetrovic2005@gmail.com

trombocitopenije manje trombopoetina biva odstranjeno, pa je u cirkulaciji koncentracija trombopoetina viša, što potiče rast megakariocita (1).

Zadaća trombopoetina nije održavati konstantan broj trombocita, nego konstantnu masu cirkulirajućih trombocita (tzv. trombokrit) (1). Stoga u stanjima u kojima postoji trombocitopenija zbog povećane sekvestracije u slezeni (hipersplenizam), nema pojačane stimulacije trombopoeze, jer i sekvestrirani trombociti čine funkcionalnu masu trombocita, koji aktivno odstranjuju TPO iz plazme, te se mogu u stanjima stresa mobilizirati u cirkulaciju.

Osim trombopoetina pozitivan učinak na proliferaciju i diferencijaciju trombocita imaju i proupalni citokini, interleukini (IL), od kojih najvažniji utjecaj imaju IL-6 i IL 11, te drugi humoralni čimbenici kao IL-1  $\alpha$  i  $\beta$ , IL-3, i inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (IGF-1), što je temelj nastanka reaktivnih trombocitoza (1, 4). Trombopoeza je potaknuta i u anemiji (osobito često se vidi u sideropeničnoj i hemolitičkoj anemiji), što se može objasniti učinkom eritropoetina čije je molekula 50% istovjetna s molekulom trombopoetina.

Životni je vijek trombocita u krvi, nakon otpuštanja u cirkulaciju 7-10 dana (5). Preživljenje transfundiranih trombocita može biti i kraće, a skraćenje navodno korelira sa stupnjem trombocitopenije (5). U normalnim uvjetima, oko trećina ukupne mase trombocita u cirkulaciji sekvestrirana je u slezeni (5). "Ostarjele" trombocite, ili one opsonizirane anti-trombocitnim protutijelima, odstranjuju stanice monocitno-makrofagnog sustava, prije svega u slezeni, ali i jetri (Kupferove stanice) i drugdje u tijelu (5). Mlađi trombociti su nešto veći i hemostatski aktivniji od "starih" (6). Normalan broj trombocita u djece kreće se u rasponu 150 -450/ $\mu$ L, neovisno o dobi (6).

### Morfologija i biologija trombocita

Kad nisu aktivirani, trombociti su diskoidne stanice bez jezgre, promjera oko 1,5  $\mu$ m (1-4  $\mu$ m) i debljine oko 0,5 do 1  $\mu$ m, prosječnog volumena 6-10

femtolitara (fL) (7, 8). Kada se aktiviraju, trombociti dramatično promijene svoj oblik - postaju nepravilne "bodljikave" kugle s brojnim, dugačkim filopodijima, izdancima citoplazme koji i za 400% povećavaju njihovu kontaktnu površinu (7, 9). Veća površina omogućuje bolju adheziju za kolagen na mjestu ozljede žilne stijenke, te bolju interakciju sa drugim trombocitima (agregacija) i plazmatskim čimbenicima zgrušavanja (proizvodnja trombina i fibrina).

Veličina trombocita, oblik u stanju mirovanja i sposobnost promjene oblika pri aktivaciji određene su kompleksno organiziranim citoskeletom usidrenim u staničnu membranu, pri čemu glavnu ulogu "sidrenja" ima glikoprotein GP Ib, dio istog GPIb/IX/ glikoproteinskog kompleksa koji predstavlja trombocitni receptor za von Willebrandov faktor (v. dalje u tekstu) (9). Ključnu promjenu pri aktivaciji predstavlja polimerizacija aktina u filamente, vezanje miozina za tako formirane aktinske niti, te kontrakcija mikrotubularne strukture smještene u obodnom dijelu trombocita, građene od tubulina (9).

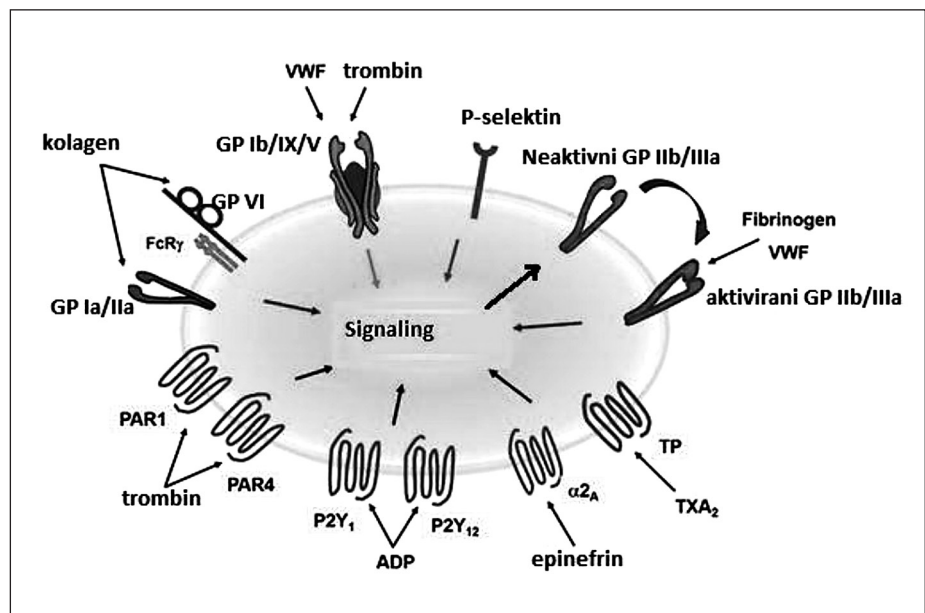
Poremećaji u strukturnim proteinima citoskeleta (primjerice mutacije gena za teški lanac ne-mišićnog miozina-9-MYH-9), kao i poremećaj GPIb/IX

(sindrom Bernard-Souliere, v. dalje u tekstu), dobro su poznata stanja s patognomoničnim velikim trombocitima (8, 10). Citoskelet trombocita ima važnu ulogu i u intracelularnom transportu trombocitnih granula (v. dalje u tekstu) (7).

Unatoč tome što nemaju jezgru, trombociti zadržavaju ograničenu sposobnost sinteze proteina, jer sadrže male količine mRNA, kao i nešto teške nuklearne RNA (heavy nuclear RNA, hn RNA) zajedno sa staničnim mehanizima za njen splicing (7).

Trombociti posjeduju nekoliko jedinstvenih organela koja su ključna za njihove funkcije (Slika 1). Najvažnija organela su:

- Tri vrste trombocitnih granula.
  - Alfa granula - najbrojnija su, oko 40-80 granula u svakom trombocitu. Sadrže von Willebrandov faktor (vWF), trombospondin, trombocitni čimbenik 4 (PF4), čimbenik rasta porijeklom iz trombocita (PDGF),  $\beta$ -tromboglobulin koji su sintetizirani u megakariocitima, te fibrinogen, čimbenik zgrušavanja V (fV), IgG, albumin,  $\beta$ -fibroblastni čimbenik rasta ( $\beta$ FGF), epitelni čimbenik rasta (EGF), vasku-



Slika 1. Trombocitni membranski receptori. Prilagodeno prema Twomey L, Wallace R, Cummins P et al. Platelets - From Formation to Function. U: Homestasis - An Integrated Vision. InTechOpen; 2018.

larni endotelni čimbenik rasta (VEGF), transformirajući čimbenik rasta  $\beta$ (TGF $\beta$ ) i kemokin RANTES (CCL5), koji su pino-citirani iz plazme i koncentrirani u  $\alpha$  granulama (7). Također sadrže i membranske proteine, za izdvojiti su tkivni čimbenik zgrušavanja (tissue factor, TF), kao i za imunološku funkciju trombocita važni P-selektin i CD 40 (7). Nasljedni manjak alfa granula očituje se kao stanje s blagom do umjerenom hemoraškom dijatezom i blažom trombocitopenijom, nazvano sindrom sivih trombocita (gray platelet syndrome) (8). Poremećaj u kojem postoji abnormalna degradacija komponenti alfa granula u trombocitima i megakariocitima naziva se Quebec sindrom (8).

- Delta ("dense", zbog tamnog prikaza na elektronskom mikroskopu) granula - 4 do 8 granula po trombocitu; sadrže vazokonstriktor serotonin, ADP, ATP, Ca<sup>++</sup>, te anorganske polifosfate (značaj v. dalje u tekstu) i pirofosfate, dok im membrana sadrži P-selektin, lizosomalne membranske proteine (LAMP 1 i LAMP 2), i glikoproteine stanične membrane GP Ib i GP IIa/IIIb. (7). Nasljedni defekti u funkciji delta granula predstavljaju grupu poremećaja nazvanu "storage pool deficiencies". Najpoznatiji poremećaji iz ove skupine su sindromi Hermansky-Pudlak, Chédiak-Higashi i Griscelli (8).
- Primarni lizosomi. - Nisu specifični samo za trombocite, nego i za brojne druge stanice. Sadrže kisele hidrolaze, elastaze, katepsine D i E, i druge litičke enzime, a membrana im sadrži tipične lizosomalne membranske proteine LAMP 1, LAMP 2 i LAMP 3 (7).
- Dva visoko specijalizirana membranska sustava
  - Otvoreni kanalikularni sustav (open canalicular system, OCS) - obilne zavojite invaginacije

plazmatske membrane, koje poput prema van otvorenih tunela presjecaju citoplazmu. OCS predstavlja "rezervu" stanične membrane koja osigurava dostatno membrane za stvaranje filopodija i lamelipodija prilikom aktivacije, ali ima i ulogu kanala za brzo izbacivanje alfa i delta granula (7).

- Gusti kanalikularni sustav (dense canalicular system, DTS) - predstavlja ostatak glatkog endoplazmatskog retikuluma, a služi za pohranu (koncentraciju) kalcijevih iona u neaktiviranim trombocitima (7).
- Membranske vezikule (egzosomi, veličine 40-100 nm i mikrovezikule, veličine 100-1000 nm)- sadrže bioaktivne citokine, eikosanoide, čimbenike zgrušavanja i RNA, a važne su za komunikaciju trombocita s drugim udaljenijim stanicama, osobito stanicama imunološkog sustava (10).

Trombociti u čovjeka imaju višestruke važne uloge, od kojih mnoge nisu još potpuno razjašnjene, a vjerojatno mnoge nisu još niti otkrivene. Glavne uloge trombocita su:

- Primarna hemostaza - stvaranje tzv. "trombocitnog čepa", primarnog trombocitnog ugruška.
- Prokoagulantna aktivnost - trombocitna membrana, koja nakon aktivacije trombocita (trombin, kolagen) postaje osobito bogata anionskim fosfolipidima - prije svega fosfatidil-serinom, predstavlja površinu na kojoj se formiraju multienzimski kompleksi čimbenika zgrušavanja koji aktiviraju f X i stvaraju trombin (trombociti su stoga prozvani čimbenikom zgrušavanja III (fIII) (9, 10). Izostanak stvaranja dovoljnog broja anionskih veznih mjesta za enzimске komplekse čimbenika zgrušavanja očituje se umjerenim defektom hemostaze koji se naziva Scott sindrom. Osim navedenog, membrana trombocita, a osobito membrana delta granula, sadrži i negativno nabijene polifosfatne skupine (poli-P) te predstavlja in vivo negativno nabijenu površinu koja služi kontaktnoj aktivaciji fXII (11).

- Imunološka aktivnost - posljednjih 10-tak godina trombociti su prepoznati, i sve jasnije okarakterizirani, kao važni sudionici imunološkog odgovora. Pripisuje im se središnja uloga intravaskularnog nadzora i otkrivanja prisutnosti patogena u krvotoku, a efektorsku funkciju u borbi protiv mikroorganizama ostvaruju samostalnim antimikrobnim djelovanjem, kao i bliskom suradnjom sa stanicama imunološkog sustava (12).
- Ostale uloge - trombociti imaju važnu ulogu u cijeljenju, remodeliranju tkiva i angiogenezi, kao i u rasapa stanica malignih tumora (13).

Detaljnija analiza imunološke funkcije trombocita, kao i njihova uloga u angiogenezi, remodeliranju tkiva i facilitiranju rasapa zloćudnih stanica, na žalost, nadilazi opseg ovog pregleda.

Za obavljanje spomenutih funkcija trombocita, osobito za uspostavljanje primarne hemostaze, te funkcije intravaskularnog imunološkog nadzora, osim spomenutih staničnih organela (trombocitnih granula), od iznimne su važnosti receptori na staničnoj membrani trombocita. Membranski su receptori, njihova uloga i klinički značaj pregledno prikazani u Tablici 1. te ilustrirani na Slici 1.

#### Stvaranje trombocitnog čepa - primarna hemostaza

U normalnim uvjetima, kada je održan kontinuitet endotela krvnih žila, trombociti se nalaze u neaktiviranom stanju, zahvaljujući netrombogenom potencijalu endotela (7). Osim što služe kao mehanička zaprijetka kontaktu trombocita sa trombogenim proteinima subendotelnog matriksa, endotelne stanice proizvode i otpuštaju prostaciklin (PGI<sub>2</sub>) i NO koji, pojednostavljeno rečeno, povećavaju "prag" aktivacije trombocita. Endotelne stanice također na svojoj membrani ističu i molekulu CD39, koja djeluje kao ADP-aza i razlaže plazmatski ADP, te trombomodulin koji veže plazmatski trombin, onemogućujući tako aktivaciju trombocita ovim "nenamjenskim" solubilnim agonistima (7).

Tablica 1.  
Trombocitni membranski receptori i njihov klinički značaj

| Receptor                     | Ligand                     | Uloga   | Klinički značaj   |
|------------------------------|----------------------------|---|---|
| GP Ib/IX/V                   | vWF                        | Adhezija trombocita za subendotelni matriks, osobito pri brzom protoku krvi.  | Manjak- Mb Bernard- Souliere<br><br>Mutacija koja povećava afinitet za vWF-trombocitni tip vWD (pseudo-vWD)   |
|                              | Trombin                    | Sidrenje trombocita za vWF koji je vezan za fibrile kolagena; slabi aktivacijski signal   |   |
|                              |                            | Sidrenje membrane trombocita za citoskelet - održavanje oblika trombocita   |   |
| GP Ia/IIa                    | Kolagen                    | Adhezija - sidrenje trombocita za subendotelni matriks; slabi aktivacijski signal   | Manjak - blaga hemoraška dijateza   |
| GP VI                        | Kolagen                    | Adhezija za subendotelni matriks<br>Aktivacija-jaki aktivacijski signal - promjena oblika trombocita, aktivacija GP IIb/IIIa, degranulacija | Manjak - teža hemoraška dijateza, uključujući spontana krvarenja  |
|                              | Laminin                    |   |   |
| GP $\alpha 5\beta 1$ (VLA-5) | Fibronectin                | Adhezija  |   |
| GP $\alpha 6\beta 1$         | Laminin                    | Adhezija  |   |
| GP IIb/IIIa                  | Fibrinogen vWF (solubilni) | Agregacija - glavni agregacijski put  | Manjak - Trombastenija Glanzmann  |
| P2Y1                         | ADP                        | Slabi aktivacijski signal u fazi amplifikacije  |   |
| P2Y12                        | ADP                        | Slabi aktivacijski signal u fazi amplifikacije  | Manjak - blaža do umjerena hemoraška dijateza   |
| PAR 1                        | Trombin                    | Aktivacija - snažni aktivacijski signal u fazi amplifikacije, receptor visokog afiniteta (aktiviraju ga već i male količine trombina)       |   |
| PAR 4                        | Trombin                    | Aktivacija - snažni aktivacijski signal u fazi amplifikacije, receptor niskog afiniteta   |   |
| TP $\alpha$                  | Tromboksan A2 (TXA2)       | Važan za pojačavanje aktivacije trombocita  | Aspirin - trajna inhibicija sinteze TXA2 (reverzibilna inhibicija-naproxen, ibuprofen, ketoprofen)<br><br>Disfunkcija receptora ili sinteze TXA2 - blaga hemoraška dijateza |
| 5HT5A                        | Serotonin                  | Aktivacija  |   |
| $\alpha 2a$ receptor         | Adrenalin                  | Stimulacijski signal; u fiziološkim uvjetima nedovoljan za samostalnu aktivaciju  | Manjak - blaga hemoraška dijateza   |
| P-selektin                   | PSGL-1                     | Interakcija s leukocitima "dostava" tkivnog faktora (TF) porijeklom iz monocita trombocitima  |   |
| Fc $\gamma$ RIIa             | Imuni kompleksi            | Aktivacijski signal   | U heparinom induciranoj trombocitopeniji (HIT), protutijela na heparin-PF4 kompleks vežu se na ovaj receptor i aktiviraju trombocite  |

Prema: Newman PJ, Newman DK. Platelets and the Vessel Wall. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. Str. 951-963., Lambert MP, Poncz M. Inherited Platelet Disorders. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. Str. 1010-1027., Kauskot A, Hoylaerts MF. Platelet receptors. U: Gresele, P. Handbook of Experimental Pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2012. Str. 23-57, Brian E, Xiaoping D. New Concepts and Mechanisms of Platelet Activation Signaling. Physiology. 2017;32:162-177., Twomey L, Wallace R, Cummins P et al. Platelets - From Formation to Function. U: Homeostasis - An Integrated Vision. InTechOpen; 2018

Kod ozlijede endotela krvne žile, gube se gore navedeni i zaštitni mehanizmi, a na mjestu ozlijede trombogeni proteini subendotelnog matriksa (kolagen, vWf, laminin) dolaze u kontakt s trombocitima iz krvotoka. Slijedi složen niz događaja od kojih se neki odvijaju i istovremeno, a koji se praktično mogu podijeliti u nekoliko etapa (Slika 2) (9):

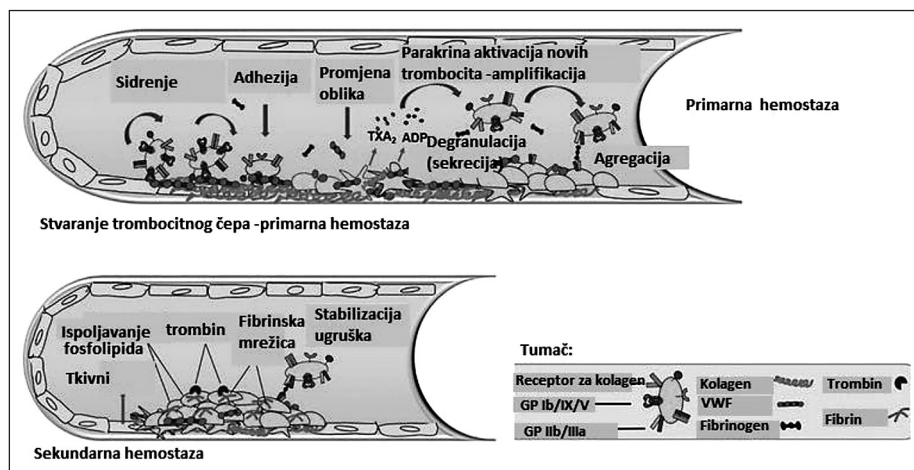
- Adhezija trombocita na mjestu ozlijede

Trombocitni receptor GP Ib/IX/V kompleks veže se za molekule vWf koje se nalaze vezane za kolagen u subendotelnom matriksu (9). Radi se o receptoru visokog afiniteta za svoj ligand, pa do vezanja može doći i pri vrlo brzom protoku krvne struje (što je od osobitog značaja za zaustavljanje arterijskih krvarenja) (7, 9). Unutarstanični signal koji je posljedica ovog vezanja je samo slabi aktivacijski signal, ali je ova interakcija vrlo važna za "sidrenje" trombocita na mjestu ozlijede, što omogućava interakciju receptora za kolagen (7, 9). Kada se trombociti "usidre" na mjestu ozlijede, ostaju duže vremena u neposrednoj blizini receptora za kolagen, pa se receptor za kolagen Ia/IIa, koji ima niski afinitet za svoj ligand, može vezati za kolagen, čime se trombociti još čvršće usidre, a javlja se dodatni slabi aktivacijski signal (7, 9).

- Aktivacija trombocita

Čvrsto sidrenje trombocita (adhezija) sada omogućuje vezanje trombocitnog receptora GP VI za kolagen (koji je također niskog afiniteta). Vezanjem se postiže jaki unutarstanični aktivacijski signal (kolagen je, uz trombin, najjači aktivator trombocita) i dolazi do aktivacije trombocita (7, 9). Aktivacija trombocita podrazumijeva niz unutarstaničnih događaja, od kojih su najvažniji:

- Promjena oblika - niz brzih promjena u citoskeletu dovodi do preobrazbe iz diskoidnog oblika u kuglasti oblik s brojnim citoplazmatskim izdancima (filopodijima i lamelipodijima), čime se i do 400% povećava površina stanične membrane (7, 9).
- Degranulacija (sekrecija) - djelovanjem citoskeleta, alfa i del-



Slika 2.

Primarna i sekundarna hemostaza. Prilagođeno prema Twomey L, Wallace R, Cummins P et al. Platelets - From Formation to Function. U: Homestasis - An Integrated Vision. InTechOpen; 2018.

ta granula dolaze do membrane otvorenog kanalikularnog sustava (OCS), gdje posredovanjem posebne skupine membranskih molekula dolazi do njihovog spajanja s membranom OCS-a, te izbacivanja sadržaja u kanaliće OCS-a kojima njihov sadržaj brzo dostiže u okolinu oko trombocita (7, 9). Na ovaj način aktivirani trombociti u svoju okolinu između ostalih tvari otpuštaju i ADP i serotonin, koji kao parakrini agonisti, osobito snažni agonist ADP, regrutiraju tj. aktiviraju nove neaktivirane trombocite iz okoline. ADP također potiče sintezu tromboxana A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) koji pasivnom difuzijom izlazi iz trombocita i djeluje također kao parakrini aktivator, aktivirajući i regrutirajući dodatne trombocite (7, 9, 15). Degranulacija također rezultira i ispoljavanjem većih broja veznih mjesta za čimbenike zgrušavanja (v. ranije u tekstu pod Prokoagulantna aktivnost), ispoljavanjem tkivnog faktora (TF) na membrani trombocita, te sekrecijom fV i fVIII čime se potiče stvaranje trombina koji također djeluje kao solubilni aktivator trombocita. Trombin je najsnažniji agonist trombocita (7, 9, 15).

- Aktivacija GP IIb/IIIa, membranskog receptora za fibrinogen (također veže i plazmatski solubilni

vWf). GP IIb/IIIa je najbrojniji glikoprotein stanične membrane trombocita (7). U mirujućem trombocitu ovaj se receptor nalazi u neaktivnom obliku, tj. molekularna konformacija njegova izvanstaničnog dijela je takva da ne može vezati svoje ligande (fibrinogen i solubilni vWf) (7, 9). Aktivacija trombocita, bez obzira da li je do nje došlo putem interakcije membranskih receptora sa kolagenom i drugim prokoagulantnim proteinima subendotelnog matriksa, ili vezanjem solubilnih agonista (ADP, TXA<sub>2</sub>, trombin) za njihove receptore na trombocitima, potiče promjenu unutarstaničnog dijela GP IIa/IIIb, uslijed koje se mijenja konformacija izvanstaničnog dijela. Nova konformacija izvanstaničnog dijela tada može vezati svoje ligande (7). Ovakav se način aktivacije zove aktivacija "iznutra prema van" ("inside out") (7, 9).

- Agregacija trombocita - vezanje fibrinogena za aktivirani receptor GP IIb/IIIa odvija se na svim aktiviranim trombocitima pa dolazi do "premoštavanja" između trombocita molekulama fibrinogena (ili vWf) (Slika 2) (7, 9). Važan izvor fibrinogena su i alfa granule samih trombocita (7, 9).

Na opisani način dolazi do stvaranja agregata trombocita vezanog za mjesto

ozlijede, čime je stvoren tzv. trombocitni čep, primarni ugrušak koji osigurava hemostazu na mjestu defekta. Istovremeno sa stvaranjem trombocitnog čepa, na oštećenju žilne stijenke i na samim aktiviranim trombocitima dolazi do odvijanja procesa "koagulacijske kaskade" kojima nastaju netopljive niti fibrina (11). Fibrinske se niti dalje križno povezuju, isprepliću se između trombocita učvršćujući tako čvrsti ugrušak, te na taj način osiguravaju definitivnu, trajnu hemostazu (11).

#### Krvarenja zbog poremećaja trombocita i procjena rizika

Kod poremećaja funkcije trombocita, ili kod trombocitopenije, manjkavo je stvaranje trombocitnog čepa, stoga problem predstavlja neadekvatno uspostavljanje primarne hemostaze, tj. brzog zatvaranja defekta žilne stijenke. Krvarenja tipična za ove poremećaje prije svega su sluznička i kožna krvarenja, ili krvarenja koja nastaju neposredno nakon ozlijede - epistaksa, petehije, purpura, ekhimoze, gingivalna krvarenja, gastrointestinalna sluznička krvarenja, menoragija. Također se, ovisno o defektu, javlja produljeno krvarenje iz mjesta ozlijede, te produljeno krvarenje nakon ekstrakcije zuba, invazivnih zahvata i u tijeku kirurških zahvata, često neposredno nakon incizija. Krvarenja u središnji živčani sustav su rijetka, ali su vodeći uzrok smrti kod pacijenata s trombocitopenijama, pa ih obavezno moramo imati na umu (6, 8). Odgođena krvarenja, opsežna intraartikularna i intramuskularna krvarenja tipična za hemofiliju u pacijenata s poremećajima trombocita se u pravilu ne javljaju, osim izuzetno u nekih pacijenata s trombastenijom Glanzmann i sindromom Quebec (v. dalje u tekstu) (8, 16).

Rizik krvarenja kod trombocitopenija nije povećan dok trombociti ne padnu ispod  $100 \times 10^9/L$  (6). Smatra se da povećan rizik poslijeoperacijskog krvarenja kod izolirane trombocitopenije nastupa kad trombociti padnu ispod  $50 \times 10^9/L$ , a rizik spontanog krvarenja tek kod trombocita  $< 20 \times 10^9/L$  (6). Osim apsolutnog broja trombocita, pri procjeni rizika krvarenja u pacijenata s trombocitopenijom treba imati na umu da je trombocito-

penija nerijetko posljedica kompleksnog poremećaja koji udružuje i poremećaje plazmatskih čimbenika koagulacije (potrošna koagulopatija, diseminirana intravaskularna koagulopatija -DIC, bolest jetre), a ponekad je i dio kliničke slike u pacijenata s poremećajem funkcije trombocita (npr. sindromi Bernard-Souliere, Wiskott-Aldrich, v.dalje u tekstu). Treba uzeti u obzir i činjenicu da su "mlađi" trombociti hemostatski aktivniji, pa će pri trombocitopeniji zbog periferne destrukcije (npr. idiopatska trombocitopenična purpura, ITP) hemostatska aktivnost biti očuvanija pri nižem broju trombocita nego kod poremećaja u proizvodnji trombocita (6).

Kod poremećaja funkcije trombocita je praktički nemoguće objektivizirati rizik krvarenja. Rizik možemo "naslutiti" s obzirom na tip poremećaja, dotadašnji obrazac krvarenja u pacijenta i rezultate testova funkcije trombocita, ali treba imati na umu da je procjena rizika krvarenja u velikoj mjeri orijentacijska, pa u pripremi invazivnih zahvata treba osigurati brzu dostupnost transfuzije trombocita i ostalih načina liječenja (v. dalje u tekstu), bez obzira na koji način pripremili pacijenta za zahvat.

Vrijeme krvarenja, koje se u prošlosti koristilo kao test probira za funkciju trombocita u ocjeni perioperativnog rizika, danas se, zbog manjkavosti u standardizaciji, osobito u male djece i dojenčadi, kao i zbog nedovoljne osjetljivosti, napušta (6, 17).

#### Dijagnostika poremećaja trombocita

U svakodnevnoj hematološkoj praksi, pacijente sa sumnjom na bolest trombocita susrećemo najčešće upućene zbog prekomjernog krvarenja (petehije, epistaksa, pojačano stvaranje modrica, menoragija, postoperativno krvarenje), zbog trombocitopenije ili, rjeđe, trombocitoze, zapažene u rutinski učinjenoj krvnoj slici, te ponekad u prijeoperacijskoj evaluaciji osoba s anamnezom krvarenja ili opterećenom obiteljskom anamnezom.

Od iznimne je važnosti iscrpna osobna anamneza, u kojoj se ne smije

zaboraviti ispitati dinamiku poremećaja - nastup i vrstu te brzinu promjena. Također treba uzeti detaljnu obiteljsku anamnezu, s osvrtom na hematološke bolesti i sklonost krvarenjima. Klinički pregled također mora biti vrlo temeljit. U kliničkoj obradi moguće je koristiti slijedeće pretrage:

- **Kompletna krvna slika (KKS).** U slučaju trombocitopenije bez simptoma, prije daljnje evaluacije potrebno je isključiti pseudotrombocitopeniju. Pseudotrombocitopenija može biti posljedica nepravilnog uzorkovanja, pri čemu u epruvetama dolazi do agregacije trombocita, a automatski brojači agregate "izbroje" kao pojedinačne trombocite. Stoga rezultat dobiven automatiziranim strojnim brojačem treba potvrditi brojanjem pod mikroskopom. Također, ponekad u epruvetama trombociti agregiraju zbog prisutstva antitrombocitnih protutijela ovisnih o antikoagulansu EDTA (javljaju se u malog postotka zdravih osoba, obično odraslih), pa treba ponoviti pretragu uzimajući krv u epruvetu s drugim antikoagulansom (citratom) (6). U KKS treba analizirati i druge dvije stanične loze, s glavnim pitanjem radi li se o poremećaju u koštanoj srži. Osim navedenog, treba obratiti pozornost na srednji volumen trombocita (MPV). Malo povišen MPV čest je u stanjima pojačane proizvodnje trombocita u koštanoj srži (pri trombocitopenijama zbog periferne destrukcije trombocita - imunoj trombocitopeniji ili potrošnoj trombocitopeniji) (6). Značajno povišen MPV (katkad su trombociti veličine eritrocita) karakterističan je za sindrome Bernard-Souliere, Paris-Trousseau, sindrom sivih trombocita, mutacije u genu GATA1, poremećaje citoskeleta (mutacije gena za MYH-9- ranije opisivano kao anomalija May-Hegglin, ili npr. sindromi Alport, Fletcher, Sebastian) (6). Mali MPV (3-5 fL) karakterističan je za sindrom Wiskott-Aldrich.
- **Citološki pregled razmaza periferne krvi.** Uz KKS, ovo je osnovna pretraga. Svakom pacijentu s nalazom trombocitopenije u KKS, osim eventualno u slučajevima prolaznih blažih

trombocitopenija za vrijeme virusnih infekcija trebalo bi učiniti citološki pregled razmaza periferne krvi. Također bi citološki pregled obavezno trebalo učiniti u obradi sumnje na pojačanu sklonost krvarenju. Osim što daje uvid u morfologiju trombocita, s prepoznavanjem izrazito malih ili izrazito velikih trombocita, retikuliranih trombocita ("mlađih" trombocita, analogno retikulocitima) i drugih specifičnosti građe, pregledom se mogu uočiti i nepravilnosti u drugim krvnim stanicama koje mogu sugerirati etiologiju poremećaja (6). Na primjer, prisutnost blasta u razmazu uočuje se na leukemiju, a fragmentirani eritrociti (shistociti) na mikrovaskularnu angiopatiju (hemolitičko uremijski sindrom - HUS, trombotična trombocitopenijska purpura - TTP, diseminirana intravaskularna koagulacija - DIC) (6).

- Transfuziološko ispitivanje antitrombocitnih protutijela. U praksi je vrlo često korištena pretraga, ali izostaje iz većine postupnika koji se mogu naći u literaturi. Rezultat nalaza treba interpretirati s oprezom jer u velikom postotku imunih trombocitopenija daje lažno negativan rezultat. Osim toga, potvrda pozitivnih protutijela ne isključuje malignu bolest, jer imuna trombocitopenija može pratiti Hodgkinov ili non-Hodgkinov limfom ili akutnu limfoblastičnu leukemiju (5).
- Analiza aspirata koštane srži. Poduzima se kada postoji sumnja da je trombocitopenija posljedica nedostatne proizvodnje u koštanoj srži (sindromi zatajenja koštane srži, infiltracija malignim stanicama, sumnja na hemofagocitnu limfocitocitozu), kad postoje znakovita odstupanja u citološkom pregledu periferne krvi, a u imunim trombocitopenijama prije započinjanja terapije kortikosteroidnim lijekovima, upravo zbog gore spomenute povezanosti s limfoproliferacijskim bolestima koje bi terapija mogla "maskirati" (5).
- Testovi agregacije trombocita. Poduzimaju se kod sumnje na trombocitopatije - kvalitativne poremećaje

trombocita, a to znači u pacijenata sa sklonošću krvarenjima koji nemaju trombocitopeniju i kod kojih probir na koagulopatije nije otkrio uzrok, kao i kod pacijenata s trombocitopenijama koji krvare nesrazmjerno stupnju trombocitopenije. Premda se razlikuju u metodama koje koriste za ocjenu stvaranja agregata trombocita, pa tako i u načinu pripreme uzorka krvi, u osnovi mjere dinamiku stvaranja agregata trombocita nakon ekspozicije uzorka nekom od trombocitnih agonista, u različitim koncentracijama (17). Kao agonisti u rutinskoj su primjeni ristocetin (antibiotik koji potiče vezanje GP Ib/IX/V za vWf), kolagen, ADP, arahidonska kiselina, epinefrin, trombin, a paleta agonista u nekim metodama može se proširiti na npr. analoge tromboksana A<sub>2</sub>, te druge (17). Dinamika agregacije sa svakim od agonista evaluira određene mehanizme stvaranja trombocitnog čepa (npr. ristocetin - interakcija vWf-GP Ib/IX/V, kolagen - adhezija, arahidonska kiselina - sekrecijska funkcija, stvaranje TXA<sub>2</sub>), i pripadajućim signalne puteve u trombocitima, kao i funkciju trombocitnih receptora za te agoniste, a neki poremećaji pokazuju tipične obrasce odstupanja u ovim testovima (v. pod kvalitativni poremećaji trombocita) (17, 18).

Osim agregometrije, za procjenu funkcije trombocita relativno je široko dostupan test PFA-100 (platelet function analyzer), koji mjeri stvaranje agregata trombocita pri brzom protoku krvi, a u kontaktu s 2 kombinacije agonista - kolagen-ADP i kolagen-epinefrin (17, 18). Radi se o testu koji je razvijen za monitoriranje učinka antiagregacijske terapije acetilsalicilnom kiselinom, te u perioperacijskom predviđanju gubitka krvi (16). Iako je dovoljno osjetljiv u detekciji trombastenije Glanzmann i nekih podtipova von Willebrandove bolesti, nema dovoljnu specifičnost niti osjetljivost za ostale poremećaje funkcije trombocita, a osobito nije osjetljiv na poremećaje trombocitnih granula, pa se ne bi trebalo koristiti kao test probira za trombocitopatije (17, 18).

- Protočna citometrija. Protočna citometrija u teoriji nudi velike mogućnosti ne samo detekcije poremećaja trombocitnih receptora (npr. trombastenija Glanzmann i Sy Bernard-Souliere i heparinom inducirana trombocitopenija (HIT) i ispitivanje trombotoeze) nego su razvijene i metode za procjenu stupnja aktivacije trombocita, mjerenje njihove prokoagulantne aktivnosti, ocjenu pojedinih signalnih puteva u trombocitima, mjerenje trombocitnih mikrovezikula itd. (17). Za istaknuti je da protočna citometrija daje pouzdane rezultate i u slučaju trombocitopenije (17). Unatoč brojnim mogućnostima, protočna citometrija se u svrhu obrade poremećaja funkcije trombocita u našoj svakodnevnoj praksi malo koristi.
- Genska analiza. S razvojem novih metoda, te sve više komercijalno dostupnim analizama u specijaliziranim laboratorijima u svijetu, u svakodnevnoj praksi sve višekoristimo različite metode genske analize za dokazivanje mutacija pojedinih gena, kako kod poremećaja trombotoeze, tako i kod poremećaja funkcije trombocita.

#### Kvalitativni poremećaji trombocita

Kvalitativnim poremećajima trombocita smatramo stanja u kojima je poremećena funkcija trombocita, a nazivamo ih i trombocitopatijama. Kvalitativni poremećaji mogu, ali ne moraju biti udruženi sa trombocitopenijom. Osim arheptipskih prirodnih trombocitopatija, koje su rijetke, trombocitopatije su puno češće stečene. Stečene trombocitopatije su najčešće su uzrokovane lijekovima bilo kao namjerni učinak terapije (u pedijatriji antiagregacija acetilsalicilnom kiselinom), bilo kao neželjeni učinak lijeka ili dodatka prehrani (Tablica 2), a disfunkcija trombocita javlja se i u uremiji i zatajenju jetre (19). Defekt alfa granula javlja se pri korištenju kardiopulmonarnog premoštavanja, a defekti trombocitne sekrecije javljaju se i u u mijelodisplastičnim i mijeloproliferacijskim sindromima (20). Također se u autoimunim poreme-

ćajima mogu sresti stečene imune trombocitopatije uslijed stvaranja protutijela koja interferiraju s funkcijom pojedinih receptora (19). Primjeri ovih stanja su stečena trombastenija Glanzmann pri čemu dolazi do stvaranja autoprotutijela na GP IIb/IIIa, a može se javiti u tijeku sistemskog lupusa ili imune trombocitopenije, te stečeni defekt GP VI, glavnog aktivacijskog receptora za kolagen, uslijed stvaranja autoprotutijela na isti (19). Osim navedenih, u svakodnevnoj praksi susrećemo i stečene blaže trombocitopatije kojima ne otkrijemo uzrok, a u tijeku se pokazuju prolazne naravi.

Kao antiagregacijska terapija u pedijatriji se koristi zapravo samo acetylsalicilna kiselina (ASA). ASA inhibira ciklooksigenazu 1, enzim nužan u sintezi tromboksana A<sub>2</sub>. Inhibicija COX 1 ASA-om je ireverzibilna, što znači da umjetno izazvana disfunkcija trombocita traje sve dok traje životni vijek trombocita koji su bili izloženi djelovanju lijeka (7-10 dana), bez obzira što je u međuvremenu koncentracija lijeka u plazmi pala. Stoga pri planiranju kirurških zahvata treba prestati uzimati ASA-u oko tjedan dana prije zahvata, a u slučaju hitnih zahvata ili traume imati na umu postojanje iatrogene trombocitopatije uzrokovane ASA-om. Inhibicija COX 1 drugim nesteroidnim antireumaticima je reverzibilna, što znači da traje dok traje izloženost trombocita dovoljnim koncentracijama lijeka.

#### Prirođeni poremećaji funkcije trombocita

Trombastenija Glanzmann (TG) prvi je opisani poremećaj funkcije trombocita. Radi se o poremećaju GP IIb/IIIa, trombocitnom membranskom receptoru za fibrinogen i vWF, ključnom za agregaciju trombocita, pa TG spada u poremećaje agregacije, tj trombocitne interakcije, zbog čega ne može doći do stvaranja trombocitnog čepa (8, 20). GT se naslijeđuje autosomno recesivno, a simptomi hemoragijske dijateze koja može biti i teška, javljaju se od rane dobi. Glavni su simptomi pojačano stvaranje modrica, epistaksa i gastrointestinalno krvarenje, a nakon puberteta djevojčicama veliki problem predstavlja menoragija

(8). Također osobito opsežna krvarenja mogu se javiti nakon poroda, kirurških i invazivnih zahvata, trauma, pa i ekstrakcije zuba (8). Opisana su i spontana intrakranijalna krvarenja, a neki pacijenti se mogu prezentirati i intramuskularnim ili intraartikularnim krvarenjima (8). Testovi agregacije trombocita kod pacijenata s GT pokazuju specifičan obrazac - agregacija je odsutna sa svim agonistima, osim ristocetina (8, 20). Potvrda dijagnoze moguća je protočnom citometrijom (20). Genska analiza se rutinski ne radi, jer je opisano više od 400 različitih mutacija (8). Liječenje se provodi transfuzijama koncentrata trombocita, koje je potrebno dati bez obzira na broj trombocita pacijenta (trombociti pacijenta nisu hemostatski funkcionalni, pa broj nije bitan) (8, 20). Kod nekih pacijenata uslijed opetovanih transfuzija dolazi do stvaranja antitrombocitnih protutijela, osobito protutijela na GP IIb/IIIa, pa pacijenti postaju ne samo refrakterni na transfuzijsko liječenje, nego protutijela dodatno narušavaju sposobnost agregacije trombocita (8, 20). U ovim slučajevima indicirano je liječenje rekombinantnim fVII u dozi 90 mcg/kg tjelesne mase (8, 20). Zbog sluzničkih krvarenja sideropenija je česta, pa treba misliti na suplementaciju željeza. Metroragiju se može pokušati ublažiti liječenjem oralnim kontraceptivima (8, 20).

Sindrom Bernard-Souliere (SBS) poremećaj je GP Ib/IX/V, receptora koji se veže na vWF fiksiran za kolagen subendotelnog matriksa, pa se radi o poremećaju adhezije trombocita. Može se naslijeđivati po autosomno dominantnom ili autosomno recesivnom obrascu, a simptomi sluzničkih krvarenja, osobito epistaksa mogu se javiti već od dojenačke dobi. Budući da je GP Ib/IX/V važan i za organizaciju citoskeleta u trombocitima, patognomoničan nalaz u pacijenata s SBS su izrazito veliki trombociti, čak veličine eritrocita, upečatljivo vidljivi na citološkom pregledu razmaza krvi. U SBS postoji i trombocitopenija, koja je obično blaža, pa je obrazac krvarenja u nesrazmjeru sa stupnjem trombocitopenije. Karakterističan je i nalaz na testovima agregacije trombocita - izostaje aglutinacija s ristocetinom, dok je agregacija sa ostalim agonistima očuvana. Dijagnoza se potvrđuje protočnom citometrijom ili genskom analizom (20). Krvarenja se zbrinjavaju transfuzijom koncentrata trombocita, a u slučaju refrakternosti uslijed senzibilizacije, daje se rFVIIa u dozi 90 mcg/kg tjelesne mase (20).

Pseudo-von Willebrandova bolest (pseudo vWB). Naziva se još i trombocitni tip vWB. Naslijeđuje se autosomno dominantno (8). Radi se o poremećaju GP Ib/IX/V pri kojem je ovaj receptor ima pojačanu sklonost vezanju vWF, pa dolazi do njegovog spontanog vezanja za cirkulirajuće trombocite, koji onda agregiraju. Zbog agregacije postoji trombocitopenija i siženje koncentracije vWF, zbog kojih dolazi do sluzničkih i kožnih krvarenja (blaga do umjerena hemoragijska dijateza), a zbog određenog stupnja aktivacije vezanjem za receptor, postoji i povećan rizik zgrušavanja (8, 20). Tipično je da se trombocitopenija pojačava u stanjima stresa (akutna bolest, trudnoća, kirurški zahvat), zbog prirodnog povećanja koncentracije vWF te da su krvarenja u nesrazmjeru sa stupnjem trombocitopenije (8, 21). Kao i u vWB tip 2B, vidi se aglutinacija trombocita s niskim koncentracijama ristocetina (znak pretjerane reaktivnosti), te snižena koncentracija multimeri vWF, ali za razliku od tip 2B kod trombocitnog tipa dodavanjem egzogenog vWF u plazmu s trombocitima (platelet rich plasma) pacijenata s trombocitnim tipom vWB ne dolazi do ispravljanja poremećaja, tj. još uvijek postoji pretjerana agregacija uz male koncentracije ristocetina (8). Za potvrdu dijagnoze radi se genska analiza. Pseudo vWB je važno točno dijagnosticirati jer se liječi transfuzijom koncentrata trombocita, dok rutinsko liječenje vWB davanjem koncentrata vWF samo pojačava trombocitopeniju (8).

Sindrom sivih trombocita poremećaj je u kojem postoji manjak alfa granula, dakle poremećaj trombocitne sekrecije (20). Pacijenti imaju blažu do umjerenu hemoragijsku dijatezu, a karakterističan je citološki nalaz velikih trombocita, koji izgledaju sivo (8, 20). Može se naslijeđivati autosomno dominantno i autosomno recesivno (19). U testovima agregacije karakteristično je slab drugi val agregacije s ADP-om, te slaba agregacija uz trombin (8). U liječenju se za manja

Tablica 2.  
Lijekovi i dodaci prehrani koji modificiraju funkciju trombocita

| Skupina lijekova/dodataka prehrani    | Lijek/dodatak prehrani                                       | Mehanizam poremećaja funkcije trombocita  |
|---------------------------------------|--|---|
| Inhibitori ciklooksigenaze 1 (COX1)   | Acetilsalicilna kiselina (ASA)                               | Inhibicija pretvorbe arahidonske kiseline u tromboksan A2- defekt sekrecijske funkcije trombocita                           |
|                                       | Ibuprofen  |   |
|                                       | Naproxen   |   |
| Tienopiridini                         | Clopidogrel, prasugrel, ticagrelor, cangrelor                | Inhibicija ADP inducirane aktivacije trombocita (inhibicija parakrine regrutacije dodatnih trombocita u fazi amplifikacije) |
| Inhibitori fosfodiesteraze            | Dipiridamol, cilostazol                                      | Povećavanje cAMP u trombocitima - smanjuje aktivaciju trombocita  |
| Inhibitori GP IIb/IIIa                | Tirofiban, eptifibatide                                      | Inhibicija agregacije ("ijatrogeni Glanzmann")  |
| β-laktamski antibiotici               | Cefalosporini  | Inhibicija ADP-om i epinefrinom inducirane aktivacije/agregacije  |
|                                       | Penicilini   | Inhibicija degranulacije  |
|                                       |  | Interferencija interakcije vWF s trombocitima   |
| Inhibitori ponovne pohrane serotonina | Olanzapine, fluoxetine, citalopram, sertraline, escitalopram | Smanjuju trombocitni serotonin  |
| Triciklički antidepresivi             | Amitriptilin   | Interferencija sa staničnom membranom trombocita  |
|                                       | Imipramin  |   |
| Antipsihotici                         | Klorpromazin   | Interferencija sa staničnom membranom trombocita  |
| Antihistaminici                       | Difenilhidramin  | Interferencija sa staničnom membranom trombocita  |
|                                       | Prometazin   |   |
| Antiaritmici                          | Propranolol  | Interferencija sa staničnom membranom trombocita  |
|                                       | Izoproterenol  | Inhibicija prostaglandinskih signalnih puteva   |
|                                       | verapamil  |   |
| Metilksanteni                         | Aminofilin   | Inhibicija fosfodiesteraze  |
|                                       | Teofilin   |   |
|                                       | Kafein   |   |
| Ostali                                | Furosemid  | Inhibicija prostaglandinskih signalnih puteva   |
|                                       | Ciklosporin  | Smanjuje ispoljavanje P-selektina   |
|                                       | Hidrokortizon  | Interferencija sa staničnom membranom trombocita  |
|                                       | Kokain   |   |
|                                       | Alkohol  |   |
|                                       | Lidokain   |   |
| Hrana/ dodaci prehrani                | Omega-3 (dulje uzimanje, nekoliko tjedana)                   | Smanjenje sinteze TXA2  |
|                                       | Ginko  | Razni mehanizmi   |
|                                       | Ginseng  |   |
|                                       | Đumbir   |   |
|                                       | Češnjak  |   |
|                                       | Kurkuma  |   |
|                                       | Vrba   |   |
| Končara                               |  |   |

Prilagođeno prema: McGuinn C, Bussel JB. Disorders of Platelets. U: Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. Elsevier Inc; 2016. Str 239-278. i Branchford B, Paola JD. Approach to the Child with a Suspected Bleeding Disorder. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. Str. 999-1009.

krvarenja koristi DDAVP, a ukoliko se na taj način ne osigura hemostaza, daje se transfuzija koncentrata trombocita. Poremećaj nastaje zbog nemogućnosti formiranja trombocitnih granula za vrijeme trombopoeze, pa sastojci alfa granula koje sintetiziraju trombociti, "cure" izvan stanica (8). Zbog toga je bolest obilježena razvojem mijelofibroze i fibroze pluća, te progresivnom trombocitopenijom (8, 19).

Osim sindroma sivih trombocita, manjak alfa granula javlja se kod sindroma artrogripoza-renalna disfunkcija-kolestaza (ARC), kod kojeg postoji poremećaj u prometu vezikula, a očituje se artrogripozom, neonatalnom kolestazom i renalnom tubularnom acidozom.

Quebec platelet sindrom (QPS) poremećaj je u kojem zbog ektopične proizvodnje aktivatora plazminogena tipa urokinaze u megakariocitima, koji se onda pohranjuje u alfa granulama, gdje degradira neke njihove proteine (8). Poremećaj se naslijeđuje autosomno dominantno, a u kliničkoj slici su specifična odgođena, umjerena do teška krvarenja nakon traume ili operacije. Naziva se još i fV Quebec sindrom, jer je isprva zapažen relativni manjak trombocitnog fV (8). Liječenje koncentratom trombocita nije učinkovito, a hemostaza se postiže inhibitorima fibroinolize - traneksemičnom kiselinom.

Sindrom Chediak-Higashi (CHS) autosomno je recesivno nasljedni poremećaj iz skupine tzv. "storage pool disorders", koji također spadaju u defekte sekrecije, a radi se o poremećaju delta granula (8, 20). CHS, osim sklonosti krvarenju koje može biti blagog do teškog stupnja, prati teška imunodeficijencija, sklonost limfoproliferativnom poremećaju, osobita sklonost EBV infekciji, ukoliko dožive odraslu dob progresivni neurološki poremećaj, a upečatljiv je karakterističan fenotip djelomičnog albinizma, sa sijedim pramenovima ili sivom, pepeljastom kosom (8). Karakterističan je citološki nalaz periferne krvi u kojem se vide velika intracitoplazmatska granula u granulocitima, limfocitima, monocitima i trombocitima (8). U liječenju krvarenja koristi se DDAVP, a

ukoliko ne pomogne daje se transfuzija koncentrata trombocita (20).

Sindrom Hermansky-Pudlak (HPS). Autosomno recesivno nasljedni nedostatak delta granula, kao i CHS spada u "storage pool disorders", s manjkavom sekrecijskom funkcijom trombocita (8). Osim blage do umjerene hemoraške dijateze karakterističan je fenotip okulokutanog albinizma, s fotofobijom, rotatornim nistagmusom, gubitkom vidne oštrine, te nakupljanjem ceroidnog sadržaja u stanicama retikuloendotelnog sustava (8). U 15% pacijenata javlja se granulomatozni kolitis. Tipična su sluznička krvarenja, epistaksa i sklonost modricama. U nalazima testova agregacije tipično je odsutan drugi val agregacije s ADP-om i epinefrinom (8). Do sada je poznato 9 gena koji uzrokuju HPS, a kodiraju proteine važne za biogenezu melanosoma i delta granula (8). Pacijenti s mutacijom HPS 2 imaju i neutropeniju, s pojačanom sklonošću infekcijama, a pacijenti s mutacijom HPS 1 i HPS 4 u odrasloj dobi razvijaju progresivnu plućnu fibrozu koja je i glavni uzrok smrti u ovih pacijenata (8). Krvarenja se liječe DDAVP-om, a ukoliko se ne opostigne hemostaza, transfuzijom koncentrata trombocita (20).

Griscelli sindrom je također sindrom poremećaja delta granula udruženog s djelomičnim albinizmom i sivom/srebrnom kosom, a uz to se javljaju i neurološkim poremećaj i limfohistiocitoza (8). Značajna krvarenja u ovom su sindromu rijetka (8).

Sindrom Wiskott-Aldrich (WAS). Radi se o X vezanom nasljednom sindromu karakteriziranom imunodeficijencijom, razvojem ekcema, dubokom trombocitopenijom s mikrotrombocitima ali i s poremećajem funkcije trombocita nalik poremećajima skupine "storage pool deficiencies" (19). Primarni poremećaj kod WAS je trombocitopenija, ali je sindrom na ovom mjestu spomenut kako bi se istaknulo da postoji i funkcionalni defekt trombocita. U liječenju se koriste transfuzije koncentrata trombocita, opisani su pokušaji liječenja analogima trombopoetina, a definitivno liječenje je transplantacija krvotvornih matičnih stanica (20). Srodan, ali blaži poremećaj je i X vezana trombocitopenija (8).

Ostali poremećaji sekrecije trombocita. Osim sekrecije granula, manjkava može biti i sekrecija TXA<sub>2</sub> koja se javlja uslijed poremećaja u metabolizmu arahidonske kiseline i sinteze TXA<sub>2</sub> (20).

Defekti trombocitnih receptora. Opisano je i više slučajeva sklonosti krvarenju uslijed manjkavosti trombocitnih receptora za aktivirajuće agoniste. Opisani su slučajevi izoliranog manjkavog odgovora na epinefrin, kao posljedica smanjenog broja  $\alpha_2a$  receptora, s anamnezom sklonosti modricama i produljenog krvarenja (20). Postoje i selektivni defekti odgovora na kolagen, kao posljedica defekta GP Ia/IIb, s kliničkom slikom minimalno pojačane sklonosti krvarenju, te GP VI, sa kliničkom slikom umjerene do teške hemoraške dijateze i sklonošću kožnim i sluzničkim krvarenjima (19, 20). Blaža hemoraška dijateza javlja se i kod P2Y<sub>12</sub>, receptora za ADP. U nalazima karakteristično izostaje agregacija i s visokim koncentracijama ADP-a. Opisani su i defekti receptora za TXA<sub>2</sub>, s kliničkom slikom blage hemoraškedijske nalik učinku aspirina.

Značajna krvarenja u poremećajima trombocitne sekrecije i defekta trombocitnih receptora zbrinjava se transfuzijom koncentrata trombocita (8, 20).

Sindrom Scott poremećaj je prokoagulantne funkcije trombocita kod kojeg izostaje reorganizacija stanične membrane uslijed aktivacije, s ispoljavanjem fosfatidil serina (8, 19). Naslijeđuje se autosomno recesivno, a karakterizira ga sklonost produljenom krvarenju nakon invazivnih i kirurških zahvata, ekstrakcije zuba i sl., a opisana je i pojava spontanog retroperitonealnog hematoma (8). Krvarenja se zbrinjavaju transfuzijom trombocita (8).

Sindrom ljepljivih trombocita. Za razliku od gore opisanih poremećaja funkcije trombocita koji se očituju sklonošću krvarenju, poremećaji funkcije trombocita mogu rezultirati i sklonošću patološkom zgrušavanju. Ovaj je sindrom autosomno dominantno nasljedan poremećaj, a karakterizira ga nalaz pojačane agregacije trombocita već i pri malim koncentracijama agonista i klinička prezentacija okluzije arterija ili vena često

vezane uz stres - npr. infarkt miokarda, tranzitorna ishemijska ataka ili idiopatska ishemijska optička neuropatija (19). U sekundarnoj prevenciji se koristi acetylsalicylna kiselina u niskim dozama (19). Genetska promjena u podlozi još nije okarakterizirana.

#### Kvantitativni poremećaji trombocita

Kvalitativni poremećaji uključuju smanjenje broja trombocita - trombocitopenije i povećanje broja trombocita - trombocitoze.

#### Trombocitopenije

Trombocitopenija se definira kao stanje u kojem je broj trombocita manji od  $150 \times 10^9/L$  (22). Kod imune trombocitopenije dijagnostičkim se smatra broj trombocita niži od  $100 \times 10^9/L$  (23). Trombocitopenije su toliko česte i važne da većina njih zaslužuje zaseban pregledni članak. Ovaj će tekst, stoga, biti ograničen na pregled diferencijalnih dijagnoza trombocitopenije, prikazan u Tablici 3. Pojedinačno će biti predstavljeni samo stanja koja zahtijevaju brzo prepoznavanje i diferentno hitno zbrinjavanje, i to samo u osnovnim crtama, koje usmjeravaju dijagnostičko razmišljanje i liječenje.

Prema mehanizmu nastanka trombocitopenije mogu biti posljedica ili smanjene proizvodnje trombocita u koštanoj srži, ili njihove pojačane destrukcije (22). U Tablici 3 pregledno su prikazana stanja iz te dvije skupine.

#### Transfuzijsko liječenje

Podjela trombocitopenija prema mehanizmu nastanka korisna je zato što usmjerava odluku o transfuzijskom liječenju pacijenta. Naime, u liječenju pacijenata kod kojih je uzrok isključivo smanjena produkcija trombocita, navodit ćemo se brojem trombocita kao smjernicom za transfuziju, ciljajući na onu vrijednost za koju smatramo da će osigurati hemostazu i držati pacijenta izvan rizika krvarenja. U našoj je praksi obično ciljna vrijednost  $20 \times 10^9/L$ , osim ukoliko postoji pojačana potreba -infekcija, trauma,

krvarenje i sl. U slučajevima periferne destrukcije, bez obzira koliko broj trombocita bio nizak, transfuziju primjenjujemo samo u slučaju aktivnog krvarenja jer dolazi do brze destrukcije i transfundiranih trombocita, pa ih ima smisla davati samo ukoliko je potrebno brzo osigurati hemostazu. Kod osiguravanja hemostaze u destrukcijskim trombocitopenijama moramo računati na to da će nova transfuzija možda biti potrebna već za nekoliko sati, a u ekstremnim slučajevima, obično u tijeku ugrožavajućih krvarenja i imunim trombocitopenijama može se nakon prve "bolus" transfuzije nastaviti i kontinuirana transfuzija koncentrata trombocita (24). Ukoliko sumnjamo na imunu etiologiju destrukcije, u životno ugrožavajućim krvarenjima uz transfuziju koncentrata trombocita u dozi 10-30 ml koncentrata /kg, treba dati i intravenske imunoglobuline 1 g/kg tjelesne mase, tijekom 1-3 dana, a ukoliko je nužno i kortikosteroide - u literaturi se preporučuje doza od 30 mg/kg tjelesne mase na dan (max. dnevna doza 1g), koja se može nastaviti tijekom 3-4 dana (naravno, uz obaveznu gastroprotekciju!) (24). Broj trombocita treba provjeriti odmah po isteku transfuzije, po potrebi nastaviti kontinuiranu transfuziju koncentrata trombocita (24).

#### Imuna trombocitopenija (ITP)

ITP je najčešća trombocitopenija koju susrećemo u hematološkoj praksi. Etiološki je zapravo vrlo heterogena, s kompleksnom patogenezi, no pojednostavljeno rečeno u podlozi su antitrombocitna protutijela koja uzrokuju ubranu destrukciju trombocita, a u različitoj mjeri i inhibiciju proizvodnje trombocita, a postoji i doprinos aktivnosti T limfocita (20). Dijagnoza se postavlja obično per exclusionem, u pacijenata kod kojih postoji: 1) izolirana trombocitopenija ( $<100 \times 10^9/L$ ), bez "sumnjivih" promjena u ostalim lozama i s urednim nalazom citološkog razmaza periferne krvi; 2) isključena je pseudotrombocitopenija (v. ranije u tekstu); 3) dobar odgovor na liječenje intravenskim imunoglobulinima (20). Dijagnostička vrijednost antitrombocitnih protutijela je ograničena, zbog male osjetljivosti (prisutna su u

svaga 60-80% imunih trombocitopenija), a imaju i slabu specifičnost (20). Analiza aspirata koštane srži poduzima se u slučajevima anamneze koja sugerira bolest koštane srži, suspektnih nalaza druge dvije krvne loze, promjena u citološkom razmazu periferne krvi, odsutstva odgovora na IVIG, a preporuča se, učiniti je i prije započinjanja liječenja kortikosteroidnim lijekovima (osim u slučajevima vitalno ugrožavajućeg krvarenja) (20).

U dijela pacijenata dolazi do spontanog oporavka, pa u odsutstvu većeg rizika krvarenja poduzimamo ekspektativni pristup.

U liječenju se koriste IVIG (obično jednokratna doza 0,8-1 g/kg), kortikosteroidi u našoj praksi najčešće koristimo shemu prednison 4 mg/kg/dan (max 240 mg/dan) tijekom 7 dana, s postupnim ukidanjem tijekom 4-7 dana, koriste se još i sheme s prednisonom 1-2 mg/kg u jednoj dnevnoj dozi, tijekom 21 dan, uz postupno smanjivanje, ili shema s metilprednisolonom 30 mg/kg na dan (max. 1g), tijekom 4 dana, bez postupnog ukidanja (24). U terapiji druge linije (za ITP koja traje duže od 3-6 mjeseci) koriste se imunosupresivni lijekovi (mikofenolat mofetil, azatioprin, ciklosporin), rituksimab (375 mg/m<sup>2</sup> 1x tjedno tijekom 4 tjedna), te analozi trombopoetina (20). Zanimljiv je i koncept liječenja anti-D imunoglobulinom, koji se može koristiti u RhD pozitivnih pacijenata, u dozi 50-75 mcg/kg, koji u osnovi "zamijeni" proces imune destrukcije trombocita s blažom hemolitičkom anemijom (20, 24). S liječenjem anti D imunoglobulinom u našem centru nemamo iskustva. Splenektomija se kao način liječenja s razvojem učinkovite nove farmakoterapije napušta, a rezervirana je za individualne slučajeve, npr. hitnu splenektomiju u životno ugrožavajućeg krvarenja, ili kod nekontrolirane kronične trombocitopenije s čestim krvarenjima i s lošom kvalitetom života (20). Uspješna je u oko 2/3 slučajeva (20). Kod imune trombocitopenije treba imati na umu da je učinak terapije često privremen, pa do stabilizacije nalaza treba često kontrolirati pacijenta, te da ona može biti sekundarna, pa treba u pacijenata s neočekivanom dinamikom nalaza ili drugim sumnjivim simptomima aktivno tragati za bolešću u podlozi

Tablica 3.  
Uzroci trombocitopenija u djece

| Smanjena proizvodnja trombocita  | Pojačana destrukcija trombocita   |
|--|---|
| Infekcija (Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, parvovirus, varicella, bakterijska sepsa, HIV)   | Imuna destrukcija<br>Neonatalna aloimuna trombocitopenija (NAIT)<br>Idiopatska trombocitopenijska purpura-ITP<br>Sekundarna ITP<br>sistemski lupus<br>autoimuni limfoproliferativni sindrom<br>antifosfolipidni sindrom<br>zajednička varijabilna imunodeficijencija (CVID)<br>Imuna trombocitopenijapotaknuta lijekom<br>Heparinom inducirana trombocitopenija (HIT) |
| Nutritivni manjak (folna kiselina, B12, teški manjak željeza)  | Aktivacija i potrošnja trombocita<br>Mikroangiopatije<br>Hemolitičko-uremijski sindrom (HUS)<br>Trombotična trombocitopenijska purpura (TTP)<br>Diseminirana intravaskularna koagulacija (DIC)<br>Sindrom Kassabach -Meritt<br>Opsežna trauma ili operacija   |
| Stečeno zatajenje koštane srži<br>Aplastična anemija<br>Paroksizmalna noćna hemoglobinurija<br>Mijelodisplastični sindrom<br>Hemofagocitna limfohistiocitoza (HLH)<br>Kemoterapijsko liječenje<br>Zračenje   | Sekvestracija<br>Hipersplenizam<br>Von Willebrandova bolest (vWB) tip 2B ili pseudo vWB<br>Sepsa (bez razvoja DIC-a)  |
| Infiltracija koštane srži<br>Leukemije<br>Limfomi<br>Metastatski tumori- npr neuroblastom<br>Bolesti nakupljanja- Gaucher, Niemann-Pick<br>Osteopetroza<br>Sitosterolemija   |   |
| Genski uzroci poremećene trombopoeze<br>Sindrom Wiskott - Aldrich<br>Fanconijeva anemija<br>Dyskeratosis congenita<br>Sindrom Shwachman-Diamond<br>Kongenitalna amegakariocitna trombocitopenija<br>Trombocitopenija s odsutnim radijusima (TAR)<br>Amegakariocitna trombocitopenija s radioulnarnom sinostozom (ATRUS)<br>Nasljedni poremećaj trombocita s predispozicijom za hematološke maligne bolesti (mutacije ANKRD26, ETV6, RUNX1)<br>X-vezana trombocitopenija s diseritropoezom (mutacija GATA 1)<br>MYH9 poremećaji (poremećaji u sintezi teškog lanca nemišićnog miozina) -May Hegglin anomalija, sindromi Fechtner, Alport, Sebastian, Epstein<br>Sindrom Bernard - Souliere<br>Sindrom Paris - Trousseau<br>ACTN1 vezana trombocitopenija<br>Autosomno -dominantna gluhoća s trombocitopenijom - mutacija DIAPH1 |   |

Prilagođeno prema : Despotovic JM. Causes of thrombocytopenia in children. UpToDate. Last updated: November 21, 2019., Wilson DB. Acquired Platelet Disorders. U: Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. Str. 1076-1102., Lambert MP, Poncz M. Inherited Platelet Disorders. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. Str. 1010-1027. i McGuinn C, Bussel JB. Disorders of Platelets. U: Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. Elsevier Inc; 2016. Str 239-278.

(v. Tablicu 3). Također se ITP može javiti udružena sa autoimunom hemolitičkom anemijom i/ili neutropenijom (Sindrom Evans) (5).

Heparinom inducirana trombocitopenija (HIT) je lijekom inducirana imuna trombocitopenija koja nastaje zbog stvaranja protutijela na kompleks heparina i trombocitnog čimbenika 4 (PF4) (20). Protutijela se vežu na trombocitni receptor za imunoglobuline - FcγRIIIa (v. ranije u tekstu) i na taj način aktivira trombocite, što dovodi do njihove agregacije i posljedično trombocitopenije (20). Trombocitopenija je obično u rasponu  $50-70 \times 10^9/L$ , pa opasnost od krvarenja nije velika (20). Puno veću opasnost predstavlja sklonost opsežnim arterijskim i venskim trombozama, zbog spontane aktivacije trombocita, sa smrtnošću i do 20% (20, 25). Već pri postavljanju sumnje na HIT treba obustaviti bilo kakvo davanje bilo kojeg oblika heparina, uključujući i heparinizaciju središnjih venskih katetera, te primjeniti antikoagulaciju (agatroban ili fondaparinux) (25). Nikako se ne smiju uvoditi kumarinski antikoagulansi jer dodatno pogoršavaju protrombotsko stanje (20, 25). Na HIT treba posumnjati u slučaju naglog pada broja trombocita u pacijenta koji su primali heparin u bilo kojem obliku i dozi, a obično se javlja 5-10 dana nakon ekspozicije heparinu, ali ukoliko je pacijent ranije primao heparin, moguć je razvoj HIT-a i nakon jednog dana primjene. HIT se gotovo nikada ne javlja u novorođenčadi. Dijagnoza se potvrđuje nalazom karakterističnih protutijela (25).

Trombotička trombocitopenijska purpura (TTP) je mikroangiopatska trombocitopenija udružena s intravaskularnom neimunom hemolizom do koje dolazi zbog stvaranja mnoštva mikrotromba u malim krvnim žilama (20). U mikrotrombima se troše trombociti, a razaraju eritrociti. Radi se o hitnom i opasnom stanju sa smrtnošću i do 20% (20). Dominiraju simptomi intravaskularne hemolize, neurološki simptomi (uključujući i cerebralne napade) i zatajenje bubrega, a javljaju se i vrućica, abdominalna bol i bol u prsištu. U laboratorijskim nalazima vidi se anemija, trombocitopenija, nekonjugirana hiperbilirubinemija, povišen LDH, snižen haptoglobin, pri-

sutan slobodni hemoglobin, hemoglobinurija i hemosiderinurija, povišenje ureje i kreatinina. Povišeni su D-dimeri, a mogu se vidjeti i znakovi potrošne koagulopatije (niski fibrinogen i produljenje PV-a). Citološki razmaz periferne krvi pokazuje znakove mikroangiopatske hemolitičke anemije (shistociti, mikrosferociti, bazofilne punktacije, polikromazija i nukleirani eritrociti) (20). U podlozi stvaranja mikrotromba je nedostatak plazmatskog enzima ADAMTS13 čija je uloga proteoliza vrlo velikih multimera vWF u manje i biološki manje aktivne multimerne. Ovi vrlo veliki multimeri vWF uzrokuju spontanu adheziju i agregaciju trombocita u malim krvnim žilama (20). Poremećaj enzima je najčešće stečeni - uslijed stvaranja autoprotutijela na ADAMTS13, kada se javlja obično u adolescenciji (20). Rjeđe se radi o nasljednom manjku enzima ADAMTS13, kada se simptomi mogu javiti već u novorođenačkoj dobi, (neonatalna žutica i trombocitopenija), ali i bilo kada tijekom života, obično nakon nekog okolišnog okidača (20). Dijagnoza se postavlja nalazom niske aktivnosti enzima u plazmi, a dva se oblika bolesti razlikuju dokazom specifičnih autoprotutijela (20). Od Evansova sindroma razlikuje ih citološki nalaz, intravaskularna umjesto ekstravaskularna hemoliza, te odsustvo anti-eritrocitnih protutijela.

Liječenje prirodnog oblika je transfuzija svježe smrznute plazme, koja se može provoditi profilaktički, svaka 2-3 tjedna, a liječenje stečenog oblika provodi se plazmaferezom, kombiniranom s visokim dozama steroida, a može se pokušati i s rituximabom, i imunosupresivnom terapijom (20). Transfuzije trombocita su kontraindicirane, osim u slučajevima krvarenja, jer pogoršavaju stvaranje mikrotromba (20).

Hemolitičko uremijski sindrom je također mikroangiopatski proces karakteriziran trombocitopenijom, intravaskularnom hemolizom i zatajenjem bubrega s hipertenzijom. U nekih se pacijenata javljaju i neurološki simptomi. U podlozi je stvaranje mikrotromba u malim krvnim žilama bubrega, zbog oštećenja endotela upalnim procesom. Oštećeni endotel pojačano luči vWF stvarajući dodatno trombogeni mikrookoliš. U ti-

pičnim slučajevima HUS-a (više od 90% slučajeva), do oštećenja endotela dolazi u tijeku gastroenteritisa uzrokovanog enterohemoragičnom *E. coli* (O157:H7, EHEC) ili shigellom dysenteriae, koje luče Shiga toksin koji se specifično veže na endotelu bubrega (20). U manjeg broja slučajeva radi se o atipičnom HUS-u (aHUS) kod kojeg dolazi do disregulacije u sustavu alternativnog puta komplementa koji se onda patološki aktivira i oštećuje endotel bubrega (20). Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike, laboratorijskih znakova trombocitopenije intravaskularne hemolize, s citološkim znakovima mikroangiopatskog oprozesa (vidi pod TTP), te nalaza ADAMTS13 aktivnosti veće od 5-10%. Dijagnoza atipičnog oblika postavlja se isključivanjem infekcije EHEC i *S. Dysenteriae*, ili genskim testiranjem, dok mjerenje vrijednosti komponenti komplementa nije pouzdano (20). Mjere liječenja su suportivne, uključujući i hemodijalizu (20). Transfuzije eritrocita se mogu davati, ali transfuzije trombocita su kontraindicirane osim u slučaju krvarenja (20). Za aHUS postoji ciljana terapija eculizumab-om, protutijelom na C5 komponentu komplementa (20).

Diseminirana intravaskularna koagulacija (DIC). Radi se o difuznom intravaskularnom stvaranju tromba bogatih fibrinom, do kojeg dolazi zbog pretjeranog stvaranja tkivnog faktora (TF) u tijeku opsežnih upalnih odgovora (26). TF u DIC-u stvaraju većinom upalne stanice (monociti, neutrofilni) i trombociti (26). TF aktivira plazmatske procese koagulacije i stvaranje trombina i fibrina, a trombin aktivira cirkulirajuće trombocite koji svojom prokoagulantnom aktivnošću (v. ranije u tekstu) amplificiraju čitav proces (26). Dolazi do "potrošne" koagulopatije - zbog nesvrshodne koagulacije troše se trombociti i čimbenici zgrušavanja, pa nastaje njihov manjak. U laboratorijskim se nalazima vidi produljenje PV-a, nizak fibrinogen, povišeni D-dimeri i trombocitopenija (26).

Sepsa. Osim razvoja DIC-a i djelomične supresije koštane srži koje se javljaju obično u teškim sepsama, može doći do razvoja trombocitopenije i u ranom stadiju sepse. U podlozi je sekvestracija trombocita u mikrovaskulaturi

pluća i jetre, potaknuta imunološkim mehanizmima (12). Važnost ove činjenice je u tome što pad broja trombocita ponekad uočimo u nalazima kao prvi znak razvoja teške invazivne infekcije u imunokompromitiranih ili teško bolesnih pacijenata.

Teža trauma ili operacija. U prvim danima nakon teže traume ili operacije uobičajeno se javlja trombocitopenija, obično blaža, u rasponu  $50-100 \times 10^9/L$ . Broj trombocita obično se normalizira unutar 10 dana (22).

Sindrom Kassabach Meritt. Radi se o fenomenu sekvencije i aktivacije trombocita u patološkim spletovima krvnih žila vaskularnih tumora, osobito kaposiformnih hemangioendotelioma i resičastih hemangioma (5, 22). Uz trombocitopeniju javlja se potrošna koagulopatija. Kao i kod drugih destruktivskih trombocitopenija, transfuziju trombocita treba primjenjivati u slučaju krvarenja.

Novorođenačka aloimuna trombocitopenija (NAIT). Najčešći je uzrok teške novorođenačke trombocitopenije, s ukupnom incidencijom oko 1 na 1000 novorođenčadi (20). Bolest počinje intrauterino. U podlozi je imunološka destrukcija trombocita transplacentarno prenesenim majčinim protutijelima na trombocitne antigene fetusa naslijeđene od oca (20). Intrakranijalno krvarenje javlja se u 10-20% slučajeva (20). Može se javiti već u prvoj trudnoći (20). Kako se radi o protutijelima na antigene fetusa, majka nema trombocitopeniju. Ukoliko nema krvarenja, novorođenče obično izgleda posve zdravo. Stanje se liječi sa IVIG-om 1g/kg /dan tijekom 1-3 dana i metilprednizolonom 1 mg/dan uz IVIG (20). Primjenjuje se i transfuzija trombocita, a ukoliko uz IVIG ne rezultira povećanjem broja trombocita, mogu se primijeniti trombociti prikupljeni od majke ili trombociti podudarni s majkom (20). Obavezan je UZV probir na intrakranijalno krvarenje. U slučajevima blaže trombocitopenije liječenje može biti ekspektativno, jer se broj trombocita obično normalizira unutar 2-3 tjedna. NAIT ističemo zbog potrebe rasvjetljavanja uzroka trombocitopenije u novorođenčeta. Naime, postoji pojačan rizik za težu kliničku sliku u slijedećim trudnoćama,

a moguć je prenatalni probir i indicirano je liječenje trudnice IVIG-om i kortikosteroidima.

Trombocitopenija u hematološkim malignim bolestima. Leukemije i limfomi, premda u populaciji rijetki, u hematološkoj praksi predstavljaju najčešću dijagnostičku dvojbu. Od iznimne je važnosti pri pregledu ciljano tražiti znakove limfoproliferacije (limfadenopatija, povećana jetra i slezena), a u anamnezi ispitati tipične simptome poput bolova muskuloskeletnog sustava i nemogućnosti savladavanja infekcije. U KKS treba tražiti znakove promjena ostale dvije krvne loze, s osnovnim pitanjem - "da li je proizvodnja krvnih stanica u koštanoj srži adekvatna?". Ključan je i citološki pregled razmaza periferne krvi. U slučaju sumnje na poremećaj u koštanoj srži (bez adekvatnog objašnjenja kao što je npr. akutna virusna infekcija) treba učiniti aspiraciju koštane srži.

#### Trombocitoza

Trombocitozom se smatra broj trombocita veći od  $450 \times 10^9/L$  krvi (20, 27). Ozbiljnost trombocitoze možemo stupnjevati na slijedeći način: Blaga (broj trombocita (BTr)  $450-700 \times 10^9/L$ ), umjerena (BTr  $700-900 \times 10^9/L$ ), teška (BTr  $900-1000 \times 10^9/L$ ), ekstremna (BTr  $>1000 \times 10^9/L$ ) (20).

Trombocitoze su u djece česte, a u najvećem broju slučajeva radi se o reaktivnim tj. sekundarnim trombocitozama (20, 27). Kako su trombociti reaktantni akutne faze upale, u infekciji, kao i u autoimunim upalama, često se vidi povećanje njihovog broja, posredovano citokinima (prije svega IL-6) i povećanjem ekspresije receptora za TPO, (v. ranije u tekstu, pod Trombopoeza) (20). Osobito se često može vidjeti u Kawasakijevoj bolesti, pa pri febrilnoj bolesti s trombocitozom uvijek treba misliti na Kawasakijevu bolest. Reaktivna se trombocitoza može vidjeti i u sideropeničnoj anemiji, traumati, postoperativno, te nakon splenektomije (20, 27). Iako se radi o čestoj i obično bezazlenoj promjeni, reaktivne se trombocitoze mogu javiti i hematološkim malignim bolestima, i kod solidnih tumora (hepatoblastom, tm Wilms, neuroblastom), pa je potrebna pažljiva kli-

nička i laboratorijska (KKS, sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein, feritin) evaluacija, citološki pregled razmaza periferne krvi, a u pacijenata kod kojih u praćenju ne dolazi do normalizacije učiniti hematološku, po potrebi i slikovno dijagnostičku obradu (27).

Pimarna, ili autonomna trombocitoza u djece je rijetka, a posljedica je intrinzičnih poremećaja u megakariocitima ili njihovim prekursorima (27). Može se javiti kao nasljedna trombocitoza - zbog naslijeđene mutacije, obično u genu za TPO ili njegov receptor (c-MPL), ili kao klonalni, stečeni poremećaj - mijeloproliferativne neoplazme (MPN) (20, 27). Nasljedne (obiteljske) otkrijemo obično u dojenčadi i male djece, a uglavnom su benignog tijeka, s rijetkim trombozama (20, 27).

U klonalne poremećaje spadaju esencijalna trombocitoza (ET), policitemija vera (PV), primarna mijelofibroza (PMF), kronična mijeloidna leukemija (CML), neki podtipovi akutne mijeloidne leukemije, te neki podtipovi mijelodisplastičnog sindroma (MDS)). Stečeni poremećaji uključuju mutacije u genima JAK2, CALR i MPL (ET, PMF), JAK2 (PV), BCR-ABL (CML), koji se mogu dokazivati molekularnom analizom iz uzorka periferne krvi, a kod sumnje na klonalni poduzeta dijagnostika svakako uključuje i aspiraciju, često i biopsiju koštane srži (20, 27). MPN su nerijetko praćeni vazomotornim simptomima (crvenilo, svrbež), znojenjem, povišenjem tjelesne temperature, glavoboljom, imaju i povišen rizik tromboza, a mogu imati i pojačanu sklonost krvarenjima jer razvijaju stečenu vWB, pa je određivanje vWF aktivnosti važno učiniti prije eventualnog uvođenja antiagregacijske terapije (27).

U liječenju se kod pacijenata niskog rizika za trombozu uvodi antiagregacijska terapija - acetilsalicilna kiselina u niskoj dozi (2-5 mg/kg/dan). Nema jasnog konsenzusa koji broj trombocita zahtijeva antiagregaciju (20). U našem centru je obično uvodimo kod broja trombocita većeg od  $1000 \times 10^9/L$  (ekstremna trombocitoza). Kod pacijenata s visokim rizikom za trombozu koristi se citoreduktivna terapija (hidroksiureja, u odra-

slih anagrelid), a kod pacijenata s JAK2 mutacijom dostupna je i terapija ciljanim inhibitorom JAK2 - lijekom ruxolitinib (20).

Reaktivne trombocitoze uglavnom ne zahtijevaju antiagregacijsku terapiju jer nemaju značajno povećan rizik tromboza, pa dio autora uopće ne preporučuje acetil-salicilnu kiselinu ovim pacijentima (27).

### Zaključak

Trombocitopenije i trombocitoze, kao i sumnja na pojačanu sklonost krvarenju, među najčešćim su razlozima upućivanja pacijenta hematologu. Pažljivo uzeta anamneza, iscrpan klinički pregled i dostupne i jeftine pretrage - KKS i citološki pregled razmaza periferne krvi - analizirani u kontekstu dobrog poznavanja fiziologije i biologije trombocita usmjeravaju dijagnozu, a često su i dovoljne za postavljanje dijagnoze i početak liječenja. Od iznimne je važnosti i praćenje pacijenata, jer svako odstupanje od očekivane dinamike i odgovora na liječenje zaslužuje reevaluaciju dijagnoze. Osobito revno treba preispitati dinamiku trombocitopenija, jer postoje hitna i opasna stanja koja dolaze u diferencijalnoj dijagnozi čestih poremećaja kao što je ITP.

### NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

### ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

### SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form* at [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

### LITERATURA

- Kuter ADJ. Megakaryocyte biology and the production of platelets. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/megakaryocyte-biology-and-the-production-of-platelets?csi=a5717150-c0a9-4a82-ae1f-9e01136043d3&source=contentShare>. Last updated: February 25, 2019.
- Yokota T. "Hierarchy" and "Holacracy"; A Paradigm of the Hematopoietic System. *Cells*. 2019; 8: 1-10.
- Daly ME. Transcription factor defects causing platelet disorders. *Blood Rev*. 2016; 31 (1): 1-10.
- Noetzli LJ, French SL, Machlus KR. New Insights Into the Differentiation of Megakaryocytes From Hematopoietic Progenitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019; 39: 1288-300.
- Wilson DB. Acquired Platelet Disorders. U: Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015; 1076-102.
- Despotovic JM. Approach to the child with unexplained thrombocytopenia. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-child-with-unexplained-thrombocytopenia?csi=1be8aa75-ad0d-4b36-90b0-faf1ecec11c77&source=contentShare>. Last updated: June 15, 2018.
- Newman PJ, Newman DK. Platelets and the Vessel Wall. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015; 951-63.
- Lambert MP, Poncz M. Inherited Platelet Disorders. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015; 1010-27.
- Abrams CS. Platelet biology. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/platelet-biology?csi=f63b0935-76a9-4cf0-86d3-abd37e351cf3&source=contentShare>. Last updated: July 10, 2019.
- Meijden PEJ Van Der, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions : new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2019; 16: 166-79.
- Leung LLK. Overview of hemostasis. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-hemostasis?csi=6bb010a0-e32d-40b7-8c32-a92b07484015&source=contentShare>. Last updated: October 01, 2019.
- McDonald B, Dunbar M. Platelets and Intravascular Immunity: Guardians of the Vascular Space During Bloodstream Infections and Sepsis. *Front Immunol*. 2019; 10: 1-13.
- Mezger M, Nording H, Sauter R. Platelets and Immune Responses During Thromboinflammation. *Front Immunol*. 2019; 10: 1-14.
- Kauskot A, Hoylaerts MF. Platelet receptors. U: Gesele, P. Handbook of Experimental Pharmacology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2012; 23-57.
- Brian E, Xiaoping D. New Concepts and Mechanisms of Platelet Activation Signaling. *Physiology*. 2017; 32: 162-77.
- Twomey L, Wallace R, Cummins P et al. Platelets - From Formation to Function. U: Homeostasis - An Integrated Vision. InTechOpen; 2018. Available on: <https://www.intechopen.com/books/homeostasis-an-integrated-vision/platelets-from-formation-to-function>.
- Kehrel BE, Brodde F. State of the Art in Platelet Function Testing. *Transfus Med Hemotherapy*. 2013; 40: 73-86.
- Koltai K, Kesmarky G, Feher G, Tibold A, Toth K. Platelet Aggregometry Testing: Molecular Mechanisms, Techniques and Clinical Implications. *International J Mol Sci*. 2017; 18: 1-21.
- Coutre S. Congenital and acquired disorders of platelet function. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/congenital-and-acquired-disorders-of-platelet-function?csi=e594a0fa-e085-4224-91dd-5f24ba10719b&source=contentShare>. Last updated: December 18, 2018.
- McGuinn C, Bussel JB. Disorders of Platelets. U: Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology. Elsevier Inc; 2016; 239-78.
- Branchford B, Paola JD. Approach to the Child with a Suspected Bleeding Disorder. U: Orkin SH, ur. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015; 999-1009.
- Despotovic JM. Causes of thrombocytopenia in children. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/causes-of-thrombocytopenia-in-children?csi=10d10cf8-0350-4514-9c4c-e275447a3f9a&source=contentShare>. Last updated: November 21, 2019.
- Bussel JB. Immune thrombocytopenia (ITP) in children: Clinical features and diagnosis. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/immune-thrombocytopenia-ityp-in-children-clinical-features-and-diagnosis?csi=88b78903-1c4f-4dc4-b8ec-79ca2780aef7&source=contentShare>. Last updated: October 09, 2018.
- Bussel JB. Immune thrombocytopenia (ITP) in children: Initial management. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/immune-thrombocytopenia-ityp-in-children-initial-management?csi=e0df4cef-a8c8-484e-8f46-6f6da912d1e2&source=contentShare>. Last updated: November 12, 2019.

25. Coutre S, Crowther M. Management of heparin-induced thrombocytopenia. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/management-of-heparin-induced-thrombocytopenia?csi=e074dc30-e822-4fe9-9c39-c3622236cc52&source=contentShare>. Last updated: March 12, 2019.
26. Levi M, Sivapalaratnam S. Expert Review of Hematology Disseminated intravascular coagulation: an update on pathogenesis and diagnosis. *Expert Rev Hematol*. 2018; 11: 1-10.
27. Tefferi A. Approach to the patient with thrombocytosis. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-patient-with-thrombocytosis?csi=31206cbe-6d93-40aa-ba9c-3ec8cecb778d&source=contentShare>. Last updated: January 09, 2019.

### *Summary*

#### QUANTITATIVE AND QUALITATIVE PLATELET DISORDERS

*Ana Petrović Gluščić*

*This review paper provides a comprehensive recapitulation of current knowledge of quantitative and qualitative platelet disorders. The paper also provides insight into physiologic mechanisms underlying platelet production, kinetics, function and the disorders of the above mentioned, to the extent needed for prudent clinical practice in the management of the patients suffering from platelet disorders.*

Descriptors: PLATELETS, THROMBOCYTOPATHIA, THROMBASTENIA, THROMBOCYTOPENIA, THROMBOCYTOSIS, BLEEDING

*Primljeno/Received: 15. 2. 2020.*

*Prihvaćeno/Accepted: 25. 3. 2021.*