

---

# Εργαστηριακός έλεγχος λειτουργικών διαταραχών αιμοπεταλίων

**Δρ. Σταματία Θεοδωρίδου**  
**Αιματολόγος**  
**Διευθύντρια**  
**Ν.Υ.Αιμοδοσίας**  
**Γ.Ν.Θ. «Ιπποκράτειο»**

---

# Η σημασία των λειτουργικών δοκιμασιών των αιμοπεταλίων

---

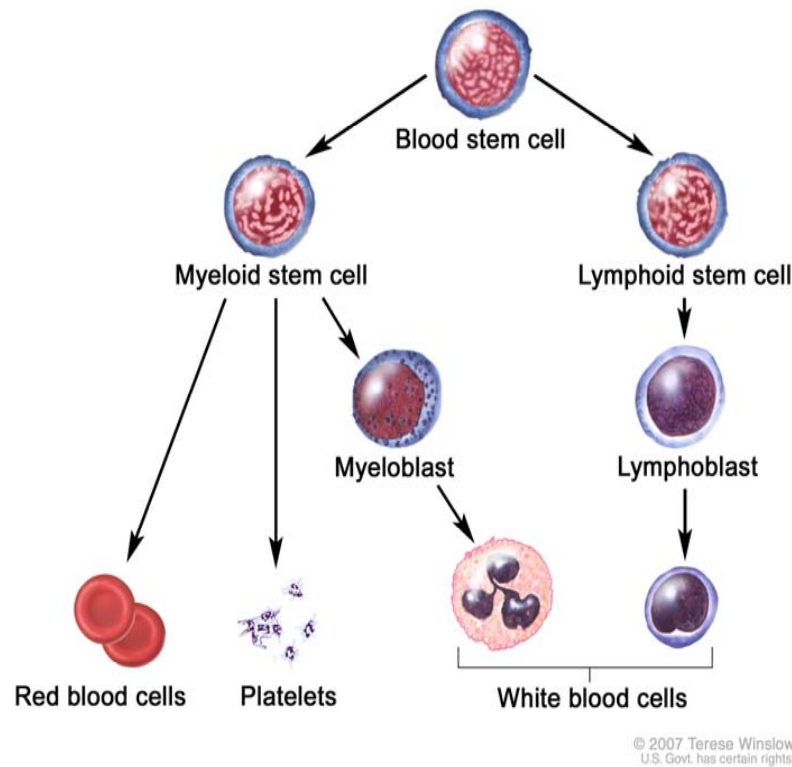
- Αιμοπετάλιο, δομή, λειτουργία
  - Κλινικές καταστάσεις
  - Εργαστηριακός έλεγχος, δοκιμασίες
  - Πλεονεκτήματα, περιορισμοί
-

# Αιμοπετάλιο, δομή & λειτουργία

---

- Το μικρότερο απύρρηνο κύτταρο περιφερικού αίματος
  - Προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα (100.000.000)
  - Κάθε μέρα παράγονται  $14-40 \times 10^8$  αιμοπετάλια ώστε να διατηρείται σταθερός ο αριθμός τους
  - 150-400.000 / $\mu$ L
  - Χρόνος ζωής 9-10 ημέρες
-

# Θρομβοποίηση



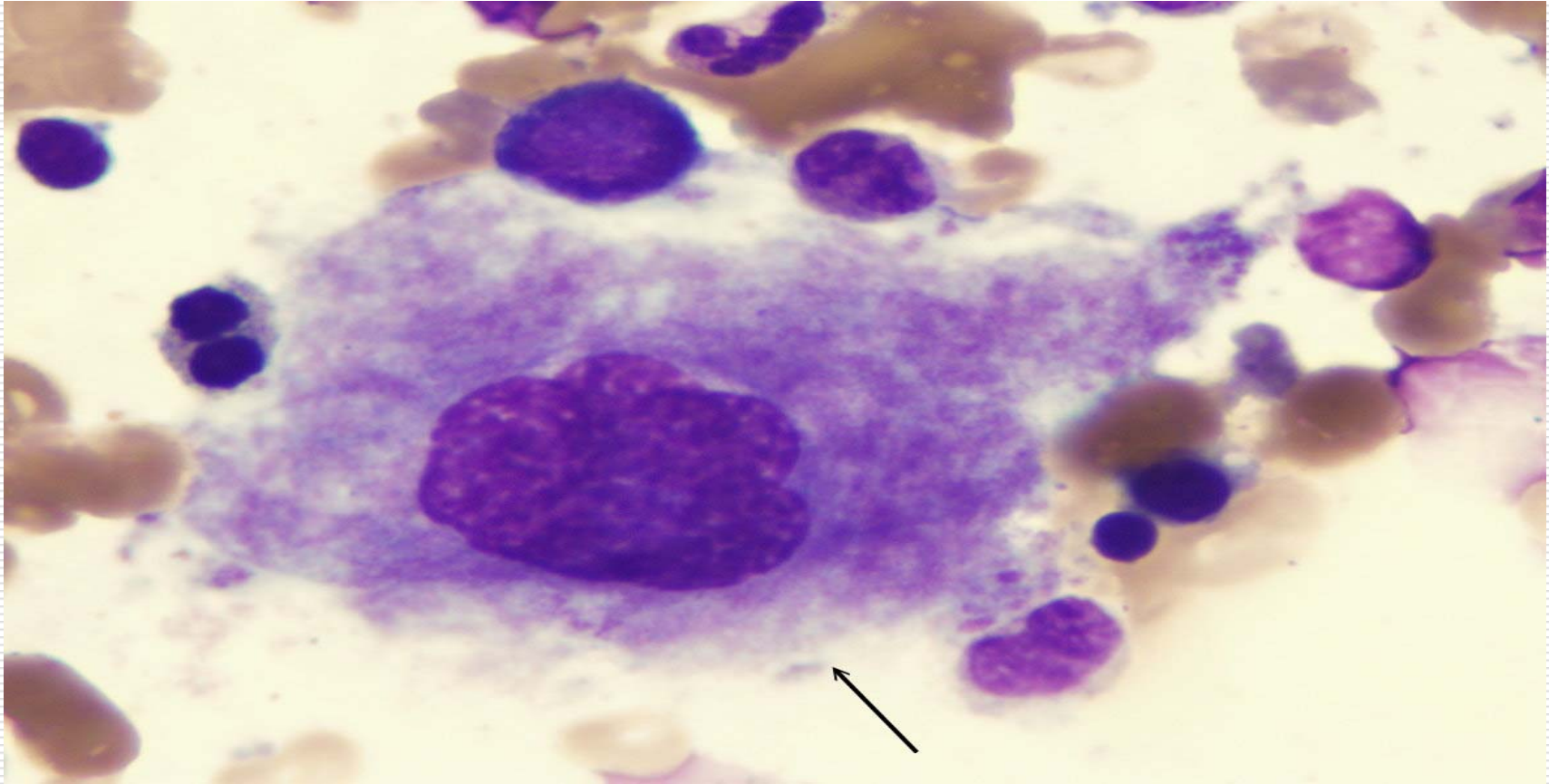
## Παράγοντες που προάγουν τη θρομβοκυτταροποίηση

- Θρομβοποιητίνη (TPO)
- Ιντερλευκίνη-1 (IL-1)
- Ιντερλευκίνη-3 (IL-3)
- Ιντερλευκίνη-6 (IL-6, σε συνεργασία με την IL-3)
- Ιντερλευκίνη-11 (IL-11, σε συνεργασία με την IL-3)
- Ιντερλευκίνη-17 (IL-17)
- Ερυθροποιητίνη (EPO)
- SCF (stem cell factor)
- LIF (leukaemia inhibitory factor)
- bFGF (basic fibroblast growth factor)

## Παράγοντες που αναστέλλουν τη θρομβοκυτταροποίηση

- TGF-β (transforming growth factor-β)
- PF4 (platelet factor 4)
- β-TG (β-thromboglobulin)
- Ιντερφερόνη α (INF-α) και πιθανά γ (INF-γ)
- Θρομβίνη
- Anagrelide

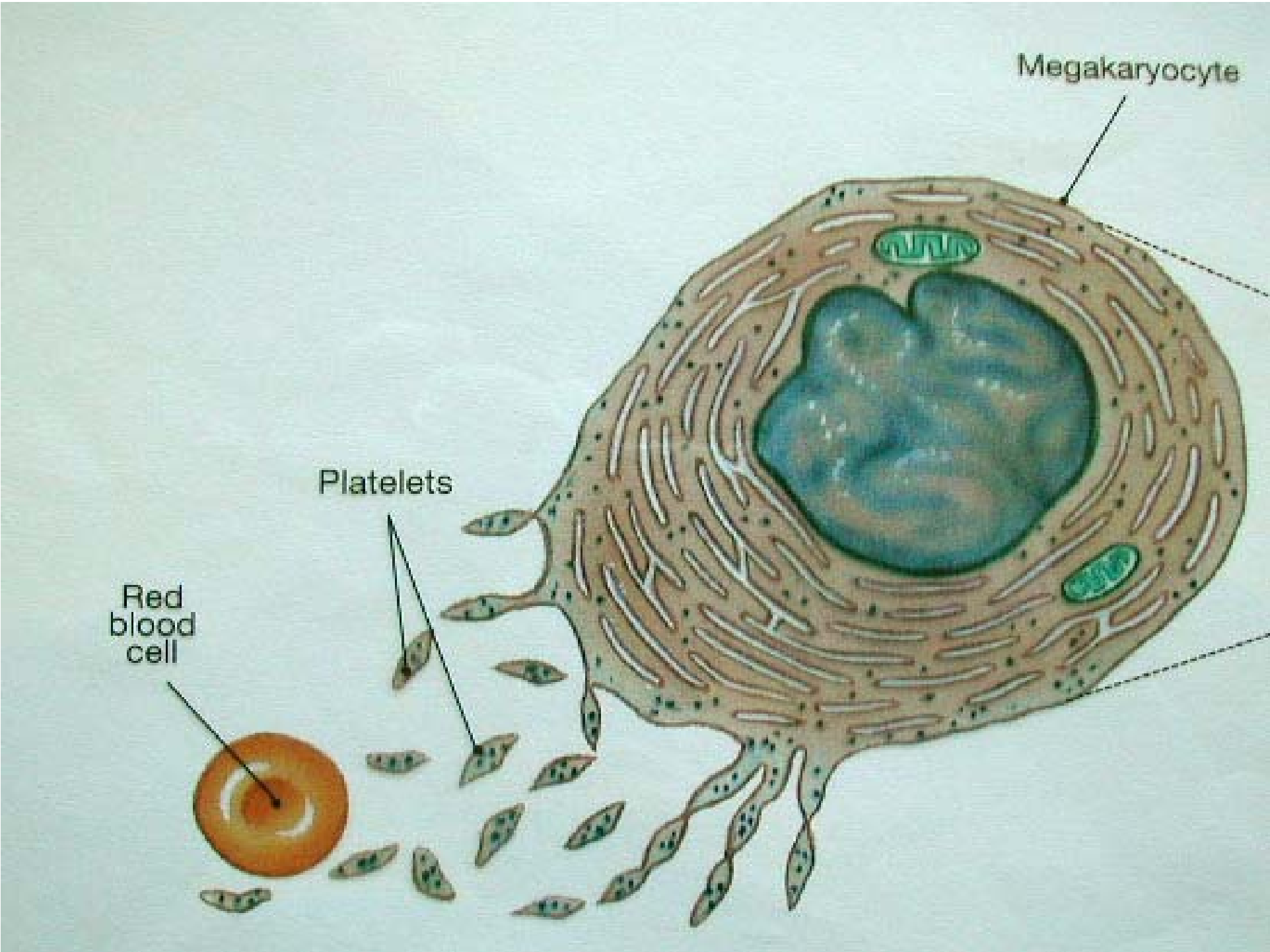
Πίνακας 3

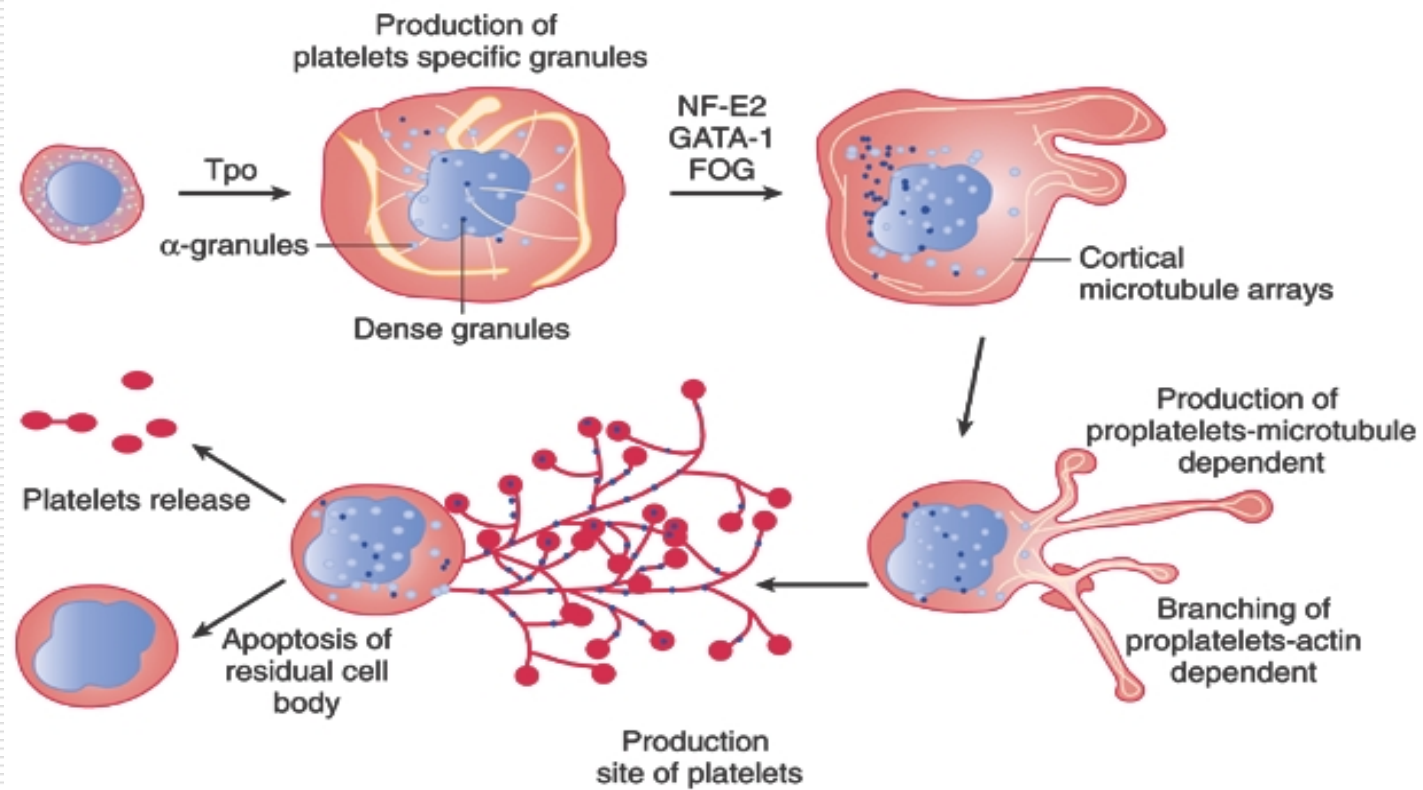


Megakaryocyte

Platelets

Red blood cell





Copyright © 2005 Elsevier Inc. (USA) All rights reserved.

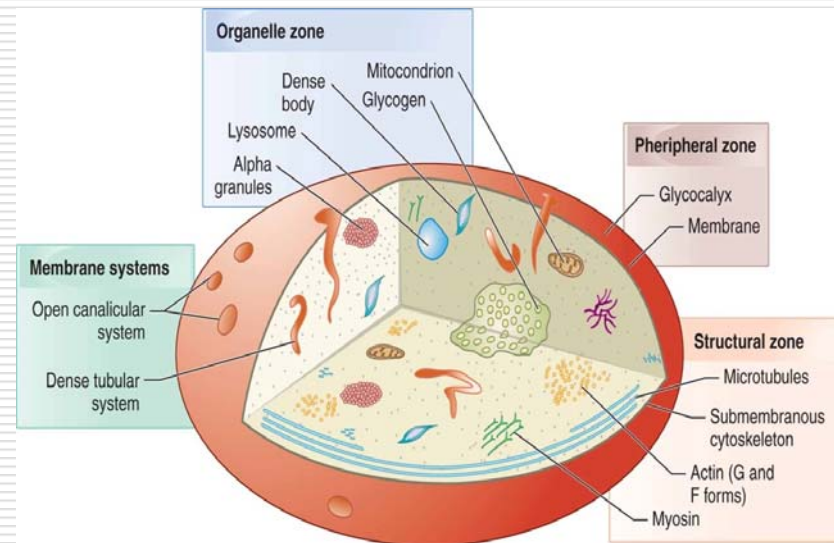




# Δομή αιμοπεταλίου

---

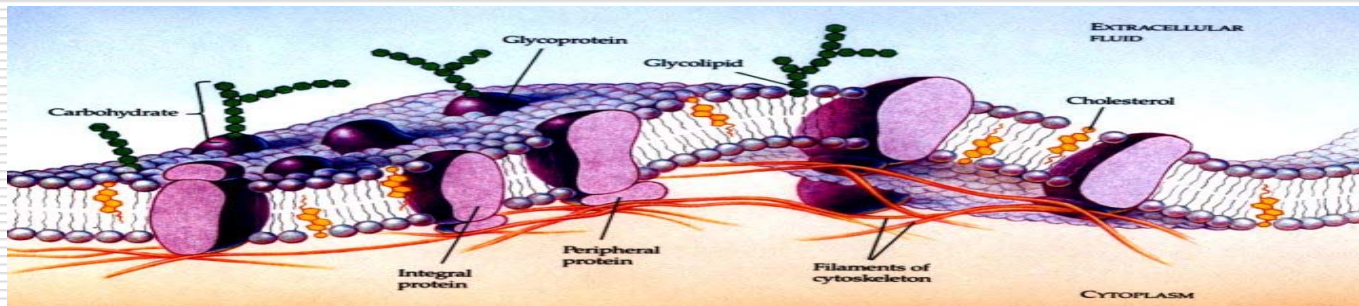
- Μεμβράνη
- Κυτταρικός σκελετός
- Κυτταρόπλασμα
- Οργανίδια



# Μεμβράνη αιμοπεταλίων

---

- Κλασική κατασκευή από δύο στρώματα λιπιδίων με ενσωματωμένα πρωτεϊνικά μόρια



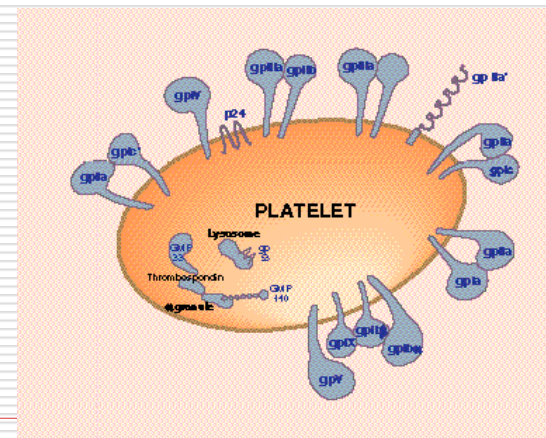
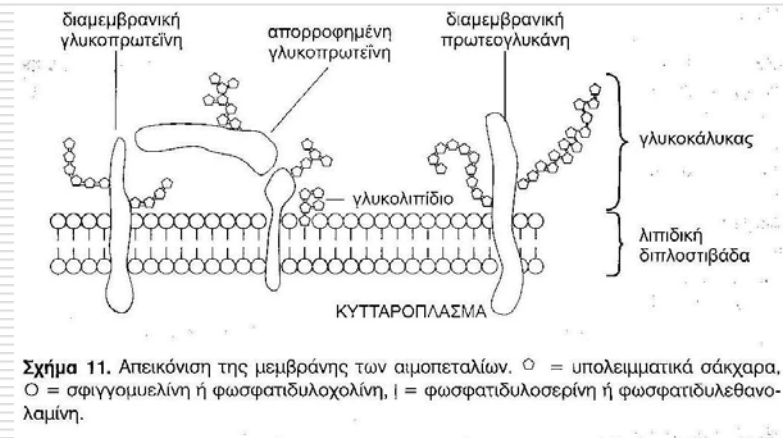
# Μεμβράνη αιμοπεταλίων

---

- Η εξωτερική είναι ουδέτερα φορτισμένη και έτσι δεν παίρνει μέρος στην αιμόσταση
  - Η εσωτερική αποτελείται από φωσφατιδυλοσερίνη και φωσφατισυλοαιθανολαμίνη με αρνητικό φορτίο και προπηκτικές ιδιότητες.
-

# Γλυκοπρωτεΐνες της μεμβράνης

- Λειτουργούν σαν υποδοχείς από το περιβάλλον των αιμοπεταλίων
- Η σύνδεση υποδοχέα-προσδέματος οδηγεί είτε στην ενεργοποίηση του αιμοπεταλίου, είτε στη σύνδεσή του με άλλα αιμοπετάλια ή με ενδοθηλιακά κύτταρα ή υπενδοθηλιακή στιβάδα.
- Ονοματολογία δεν είναι ομοιογενής



# Κυριότεροι υποδοχείς

---

- Ινωδογόνου ή GPIIb/IIIa (80.000/αιμ.)
- vWF, GPIb/V/IX (25.000/αιμοπετάλιο)
- Κολλαγόνου, GPIa/IIa
- Φιμπρονεκτίνης
- Λαμινίνης
- ADP (100.000/αιμοπετάλιο)
- Θρομβίνης PAR-1, PAR-3
- Αδρεναλίνης ( $\alpha_2$ ,  $\beta$  υποδοχέας)

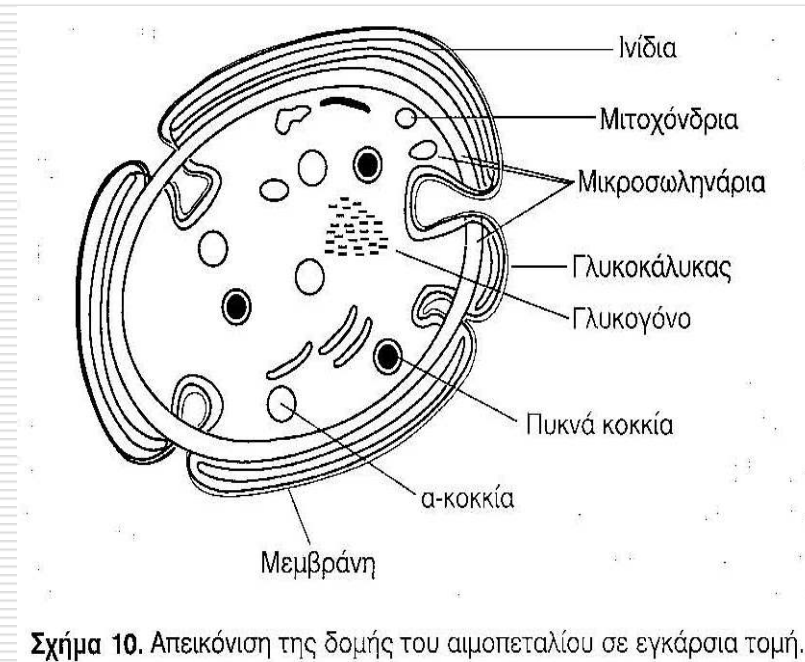
# Κύριες λειτουργίες γλυκοπρωτεϊνικών μορίων μεμβράνης

---

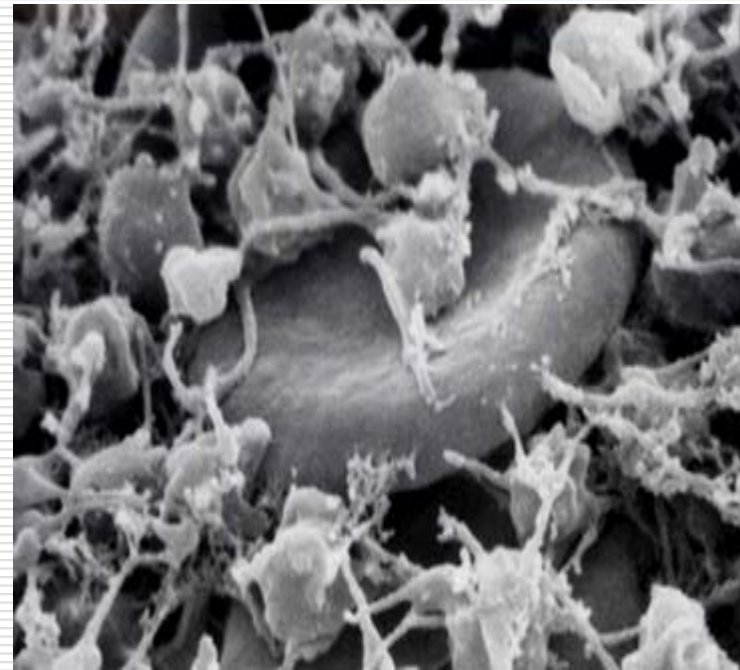
- Υποδοχείς μορίων κυτταρικής πρόσφυσης
  - Υποδοχείς ενεργοποιητών ή ανταγωνιστών της λειτουργίας των αιμοπεταλίων
  - Συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της μεμβράνης
  - Στη μετάδοση διεγέρσεων από έξω προς έσω
  - Συμβάλλουν στην αλληλεπίδραση με άλλα κύτταρα (ενδοθηλιακά, ουδετερόφιλα, καρκινικά, μικρόβια)
-

# Κυτταρικός σκελετός

- ❑ Μικροσωληνάρια
- ❑ Ινώδη στοιχεία
- ❑ Πυκνά σωληνάρια (αποθήκη ασβεστίου, προσταγλανδίνης και θρομβοξάνης)
- ❑ Ανοικτοί σωληνίσκου
- ❑ Συσταλτές πρωτεΐνες (ακτίνη/μυοσίνη)



- 
- Σύσπαση ινιδίων ακτίνης /μυοσίνης, οδηγεί σε αλλαγή του σχήματος και σηματοπισμό ψευδοποδίων



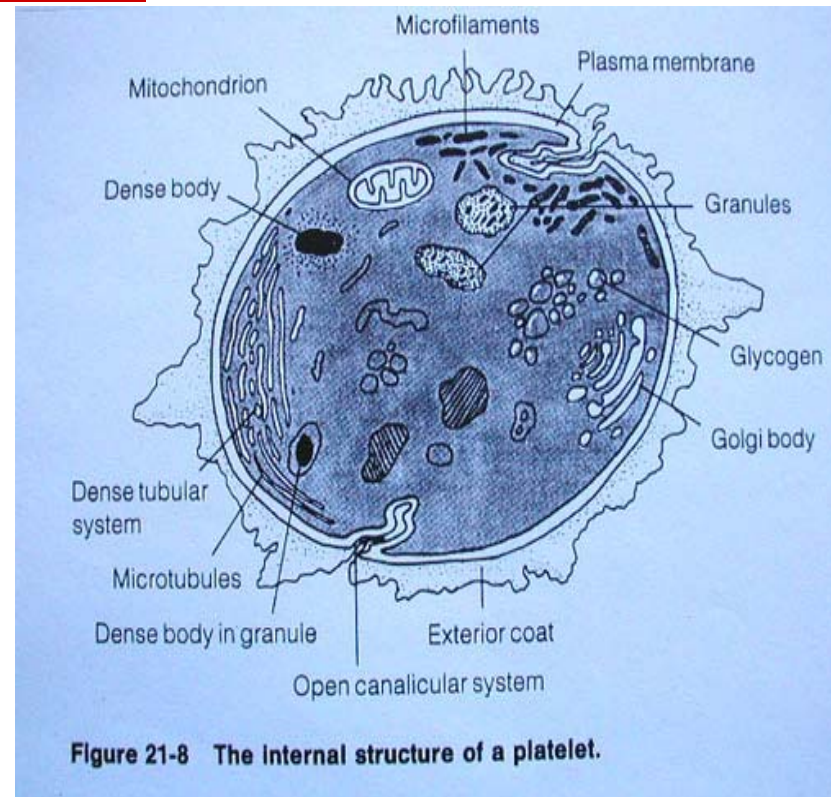


# κυτταρόπλασμα

- Κοκκία δ, α, λ
- μιτοχόνδρια
- κοκκία γλυκογόνου

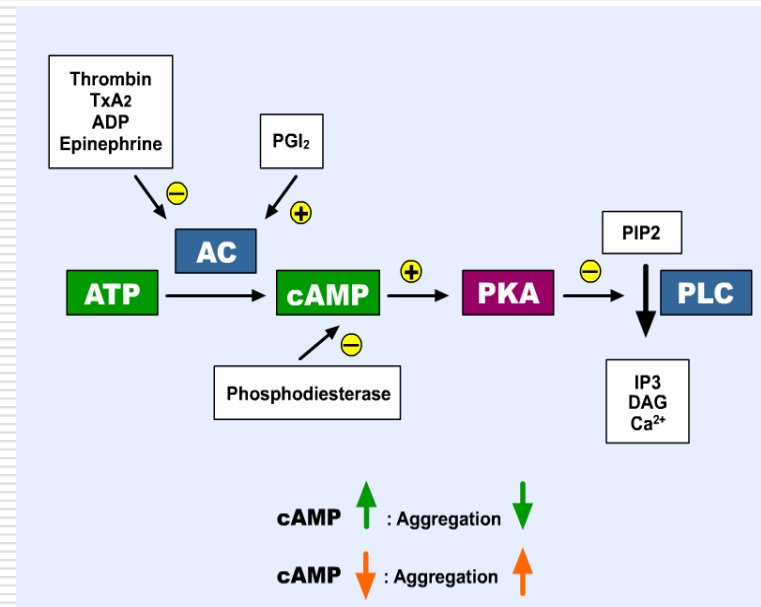
## α-κοκκία

Ινωδογόνο  
Θρομβίνη  
Παράγοντας V (VIII, XI, XIII)  
PS  
vWF  
PF4, PF3  
PS  
β-θρομβογλοβουλίνη  
VEGF, bFGF, PDGF κ.ά  
Βιτρονεκτίνη  
Φιμπρονεκτίνη  
Θρομβοσπονδίνη  
GMP33  
TFPI  
HPRG  
πλασμινογόνο  
tPA  
PAI-1  
α2-αντιπλασμίνη  
α2-μακροσφαιρίνη  
P-σελεκτίνη  
GPIV (CD36)  
Ισταμίνη  
Σεροτονίνη  
Κατεχολαμίνες  
Βιταμίνη B12  
Βιταμίνη C  
Ιόντα Mg<sup>++</sup>



# Μεταβολισμός αιμοπεταλίου

- Διαφέρει στο ήρεμο από το ενεργοποιημένο αιμοπετάλιο
- εξαρτάται από το C-AMP, που αναστέλλει τη συσσώρευση και τα διατηρεί σε ήρεμη μη ενεργό φάση



# Αιμόσταση

(αιμοπετάλιο/αγγείο/παράγοντες πήξης)

---

- *μια παραδοχή ενός διαχωρισμού*

Αρχική

Πήξη αίματος

Ινωδόλυση

---

# Αρχική αιμόσταση

---

- Όλα τα φαινόμενα από την χρονική στιγμή βλάβης του αγγείου μέχρι το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου .

## □ Πρωταγωνιστές τα αιμοπετάλια

- προσκόλληση
- ενεργοποίηση
- συσσώρευση

Εξωκυττάριο ερέθισμα → ενδοκυττάριο μήνυμα (μέσω διέγερσης μιας σειράς ειδικών υποδοχέων της μεμβράνης)

# Λειτουργία αιμοπεταλίων

---

- Ελαφρότερα κύτταρα κυκλοφορούν στα εξωτερικά στρώματα του ρεύματος ροής πολύ κοντά στα τοιχώματα των αγγείων
  - Θα πρέπει να μην ενεργοποιούνται μέσα στα ανέπαφα αγγεία
  - Να αναγνωρίζουν τη βλάβη του αγγείου, να δημιουργούν ένα σταθερό θρόμβο του κατάλληλου μεγέθους που να παραμένει όσο χρειάζεται.
-

# Αιμοπετάλια /περιβάλλον

---

- Υπενδοθήλιο πλούσιο σε φιβρονρεκτίνη, λαμινίνη, κολλαγόνο και κατά τόπους vWF
- Αν υπάρξει βλάβη του τοιχώματος αποκαλύπτονται οι υπενδοθηλιακές στιβάδες και υπάρχει ήρεμη προσκόληση αιμοπεταλίων που οδηγεί σε διέγερση η οποία παίρνει εκρηκτικές διαστάσεις.
- Διέγερση πρωτεϊνών κάτω από τη μεμβράνη
- Αντίδραση απελευθέρωσης με μαζική μετακίνηση ιόντων ασβεστίου και απότομη συστολή συσταλτών

- 
- **Αλλαγή σχήματος που μοιάζει με ακτινωτή σφαίρα και προώθηση του περιεχόμενου των εγκλειστών προς την επιφάνεια.**
  - **Μεγιστοποίηση της ενεργοποίησης των υποδοχέων**
  - **Αναστροφή λιπιδίων μεμβράνης που είναι απαραίτητα για την εξέλιξη της πήξης του πλάσματος.**
-

# Αιμοπετάλιο/αιμοπετάλιο

---

- Ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συγκολλούνται μεταξύ τους μέσω κυρίως του ινωδογόνου (80.000)
  - Αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν και με άθικτα ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται και εμφανίζουν υποδοχείς όπως ICAM, VCAM, P-E Selectin
-

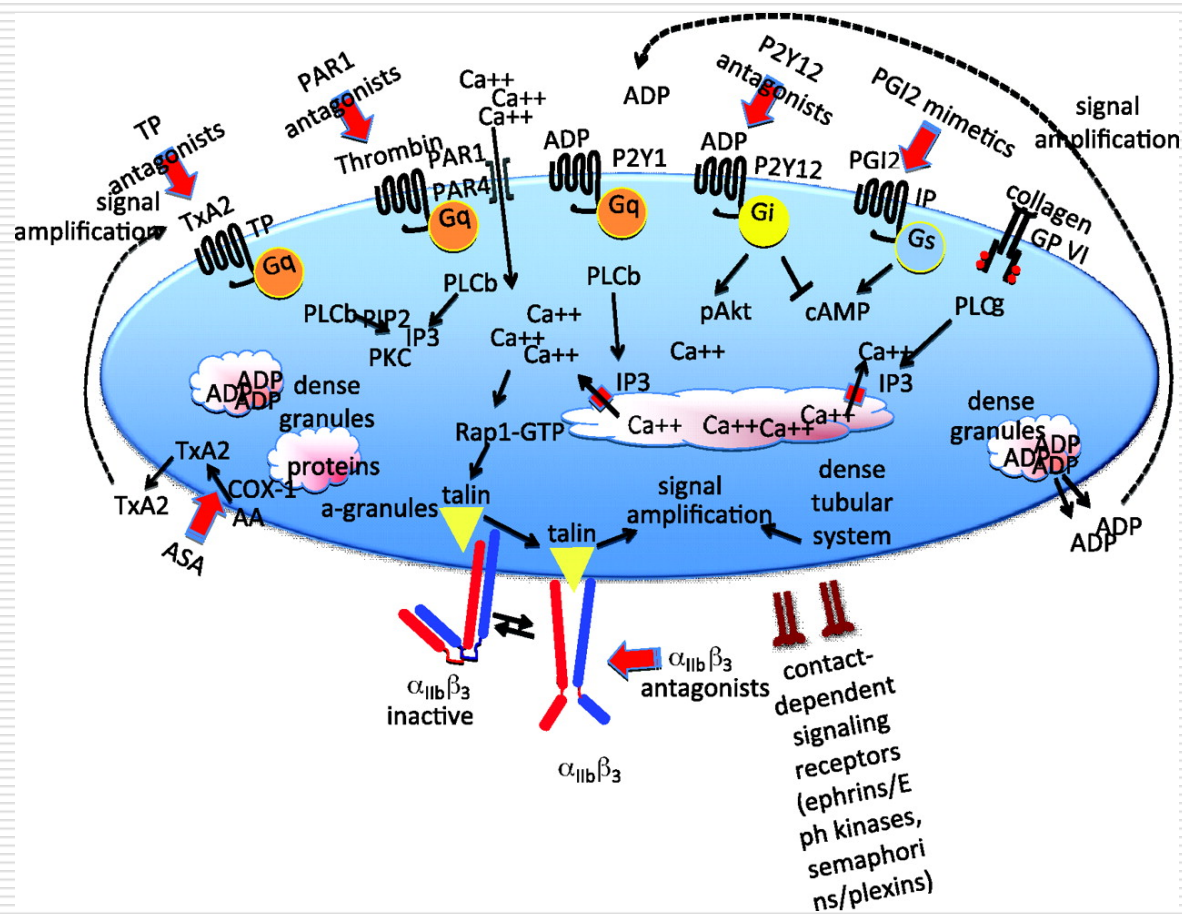


# Μηχανισμοί αυτοελέγχου

---

- **Συνεχής διακίνηση υποδοχέων από εσωτερικό στο εξωτερικό ώστε να μειωθούν οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς**
- **Σημαντική ελάττωση υποδοχέων ινωδογόνου όταν προσκολληθεί σε υπόστρωμα υψηλής πυκνότητας σε ινωδογόνο ή ινική**
- **Εκτο-ADPάση στην επιφάνεια των φυσιολογικών ενδοθηλιακών κυττάρων που εξουδετερώνει το ADP που προέρχεται από την τοπική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων**

# Ερχόμαστε στον ασθενή...



# Εργαστηριακή διερεύνηση αιμοπεταλιακής διαταραχής

---

- Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό
  - BAT SCORES/ bleeding scores
-

# 1. Αιμορραγική διάθεση

---

- Λειτουργία αιμοπεταλίων και εντόπιση σημείου βλάβης
  - Κληρονομική διαταραχή ή επίκτητη;
  - Μη καθορισμένη
  - Υπάρχει αντιμετώπιση και παρακολούθηση;
  - Θεραπεία;
-

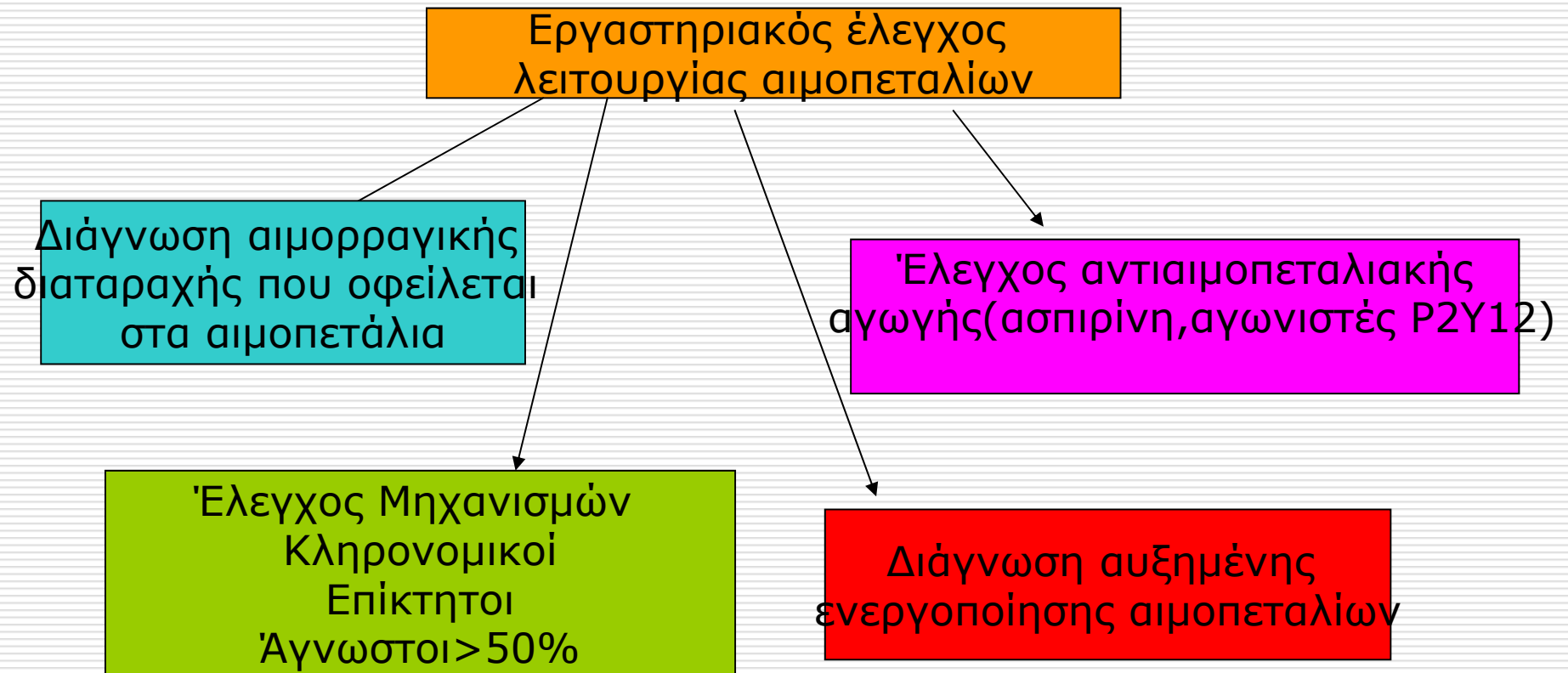
## 2. Αντιαιμοπεταλιακή αγωγή

---

- Είναι αποτελεσματική;
  - Υπάρχει αντίσταση το φάρμακο;
  - Ο ασθενής αιμορράγησε με την αντιαιμοπεταλιακή αγωγή. Μήπως προϋπήρχε διαταραχή στη λειτουργία των αιμοπεταλίων;
  - Μπορεί να γίνει εξατομίκευση της θεραπείας;
-

# Τι πρέπει να μας προσφέρει ο εργαστηριακός έλεγχος

---



**Προτεινόμενη ταξινόμηση των HERITABLE PLATELET  
DISORDERS**

**(σπάνιες καταστάσεις με ποικίλο αιμορραγικό φαινότυπο)**

---

- 1. Disorders of platelet number**
- 2. Severe disorders of platelet function**
- 3. Disorders of receptors and signal transduction**
- 4. Disorders of platelet granules**
- 5. Disorders of phospholipid exposure**

---

**• UKHCDO 2006**

# 1. Disorders of platelet number

---

- ***MYH9 disorders*** <100 cases in UK, <1000 cases worldwide
    - **May –Hegglin anomaly**
    - **Sebastian syndrome**
    - **Fechtner syndrome**
    - **Epstein syndrome**
  - ***Congenital amegaryocytic thrombocytopenia (MPL)*** <10 in UK, <100 worldwide
  - ***Amegakaryocytic thrombocytopenia with radioulnar synostosis (HOXA11)*** <10 in UK, <100 worldwide
  - ***Thrombocytopenia absent radius syndrome (UNKNOWN GENE)*** <10 in UK, <100 worldwide
  - ***X-linked thrombocytopenia with dyserythropoiesis (GATA1)*** <10 in UK, <100 worldwide
-



## 2. Severe disorders of platelet function

---

- Wiscott-Aldrich syndrome (WAS) <100 in UK, <1000 worldwide
  - Glanzmann thrombasthenia (ITGA2B, ITGB3) <100 in UK, <1000 worldwide
  - Bernard-Soulier syndrome (GP1BA, GPIBB, GP9) <100 in UK, <1000 worldwide
-

### 3. Disorders of receptors and signal transduction

---

- Platelet cyclo-oxygenase deficiency (unknown gene) <10 in UK, <100 worldwide
  - Thromboxane synthase deficiency (unknown gene) <10 in UK, <100 worldwide
  - ADP receptor defect (P2Y12) (TBXA2R) <10 in UK, <100 worldwide
-

# 4. Disorders of platelet granules

---

- **Delta-storage pool disease (unknown gene defect) <100 in UK, <1000 worldwide**
  - **Hermansky-Pudlak syndrome <100 in UK, <1000 worldwide (HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, HPS8, DTNBP1)**
  - **Chediak-Higashi syndrome (LYST) <100 in UK, <1000 worldwide**
  - **Grey platelet syndrome (unknown gene defect) <10 in UK, <100 worldwide**
  - **Paris-Trousseau/Jacobsen syndrome 11q23 deletion (FLI1) <10 in UK, <100 worldwide**
  - **Idiopathic alpha & dense-granule storage pool disease (unknown gene defect) <100 in UK, <1000 worldwide**
-

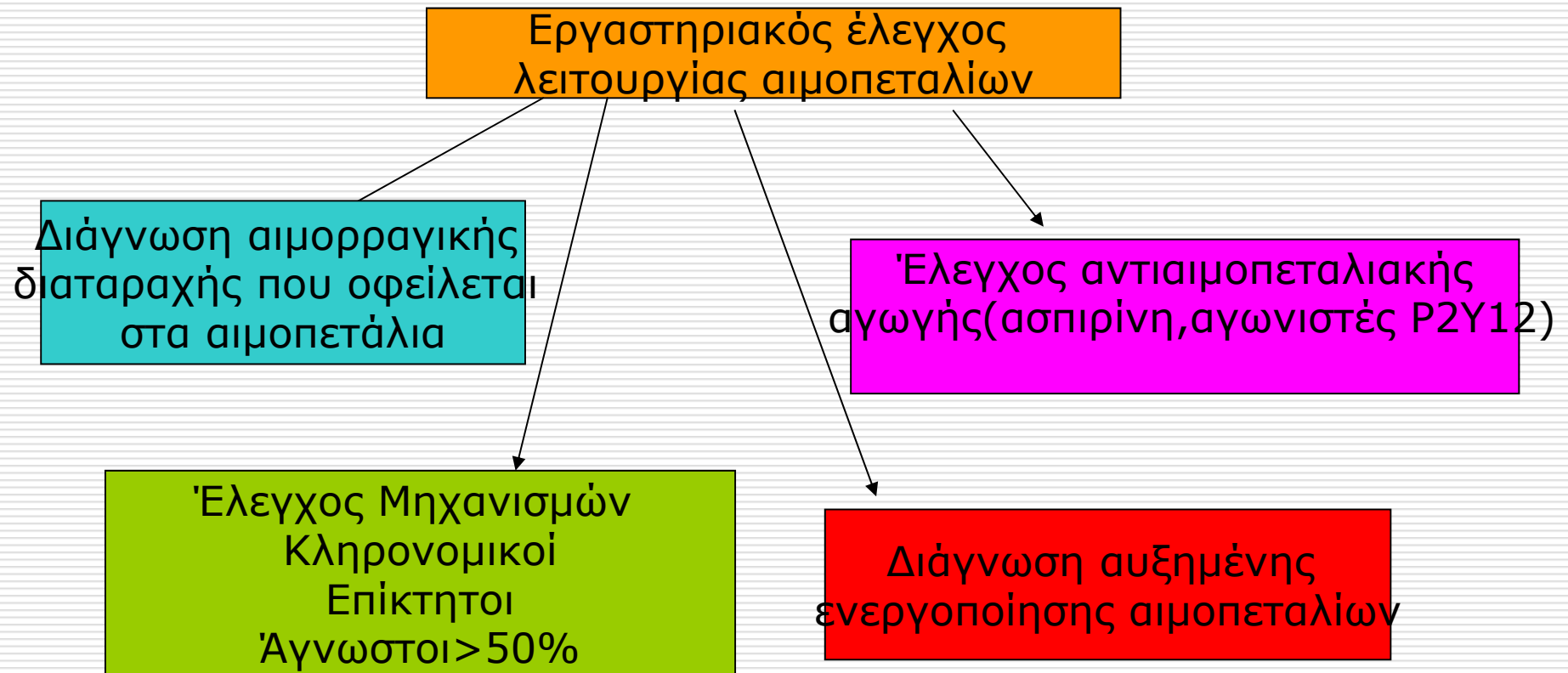
## 5. Disorders of phospholipoid exposure

---

- Scott syndrome (ABCA1) <10 in UK,  
<10 worldwide
-

# Τι πρέπει να μας προσφέρει ο εργαστηριακός έλεγχος

---





# Δυνατότητες εργαστηριακής προσέγγισης λειτουργίας αιμοπεταλίων

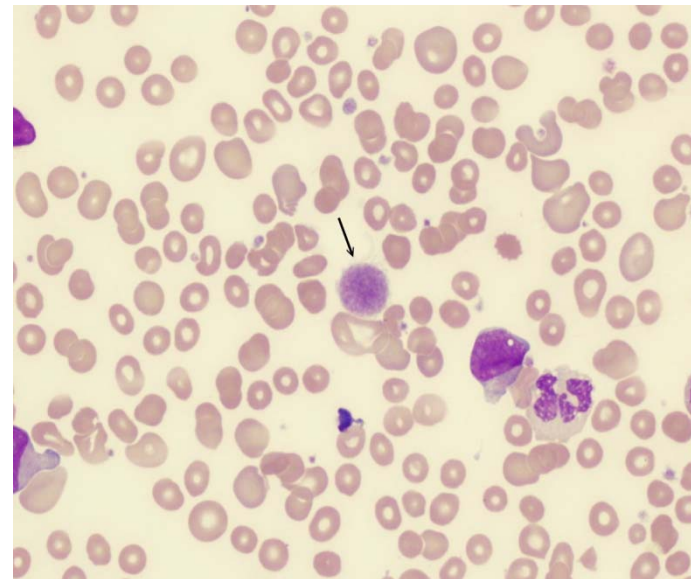
---

- **Μέτρηση αιμοπεταλίων και περιφερικό επίχρισμα**
  - **Χρόνος ροής/ PFA-100/ impact -R**
  - **Συσσώρευση αιμοπεταλίων in vitro με χρήση αγωνιστών**
  - **Άλλες μέθοδοι συσσώρευσης**
  - **Μέτρηση νουκλεοτιδίων**
  - **Κυτταρομετρία ροής**
  - **Μοριακές μέθοδοι**
-

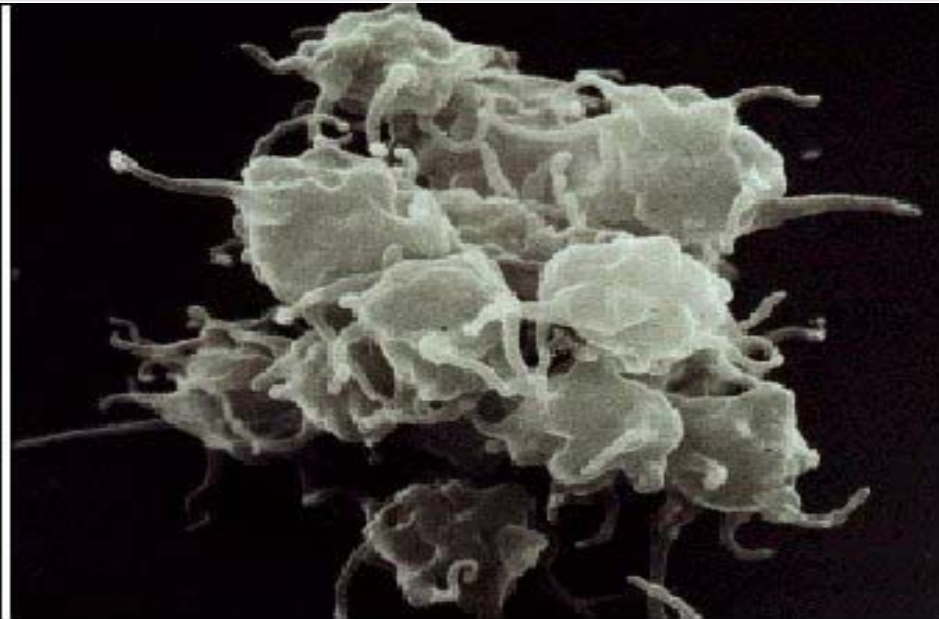
# μελέτη αιμοπεταλίων

---

- αριθμός (ηλεκτρονική αρίθμηση με αυτόματους αναλυτές)
- οπτική αρίθμηση (πλακάκι)
- ανοσολογική αρίθμηση (κυτταρομετρία ροής)
- ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ (gray platelet/ May Hegglin)
- ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ







**Resting platelets are smooth and disc shaped (left). Activated platelets have an irregular shape with many protruding pseudopodia.**

**(<http://www.perfusion.com/perfusion/articles/general/9905-platelet-anatomy/>)**

# χρόνος ροής

---

- *(2,5-9,5 min)*
- *τομή 9mm μήκος και 1mm βάθος*
- *μέτρηση χρόνου δημιουργίας*
- *αιμοπεταλιακού θρόμβου*
- *Εξαρτάται από vWF, ινωδογόν*
- *κολλαγόνο & Hct*
- *Θα έπρεπε να γίνεται 3 φορές*



# παρατεταμένος χρόνος ροής

---

- θρομβοπενία κεντρικού τύπου
  - νόσο von Willebrand
  - επίκτητη διαταραχή λόγω φαρμακευτικής αγωγής π.χ λήψη ασπιρίνης
  - 300mg ασπιρίνης επηρεάζει
  - να μην έχουν πάρει φάρμακα που επηρεάζουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων επί 1 εβδομάδα
-

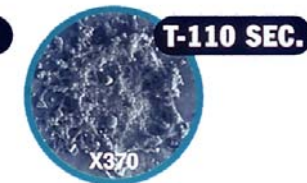
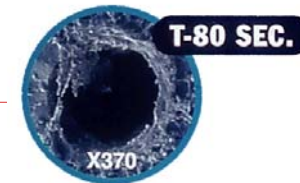
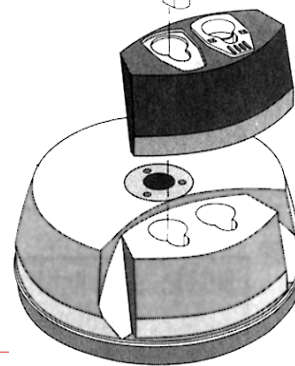
## □ PFA-100



Ολικό αίμα σε κιτρικό απορροφάται από μια οπή σε μια μεμβράνη κολλαγόνου.

Τα αιμοπετάλια προσκολλώνται στην επιφάνεια του κολλαγόνου και έτσι σταματά η ροή του αίματος. Δύο κασέτες col/EPI, col/ADP

Μετράμε χρόνο (*CT CLOSURE TIME < 165 SEC*)



# PFA-100 διαγνωστικό εργαλείο πρωτογενούς αιμόστασης

---

Σε μετά ανάλυση 15 μελετών έδειξε ευασθησία 91% για διάγνωση διαταραχών αιμοπεταλίων και 92% για νόσο Willebrand.

*Koscielny J, Clin ApplThrombosis/Hemostasis 2004*

- 5649 ασθενείς
  - **θετική προγνωστική αξία** στην προεγχειριστική εκτίμηση κινδύνου αιμορραγίας 81,8%
  - και **αρνητική προγνωστική αξία** 93,4%.
-

# PFA- P2Y innovance

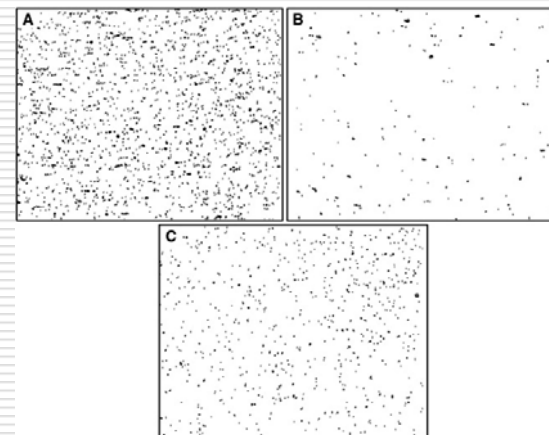
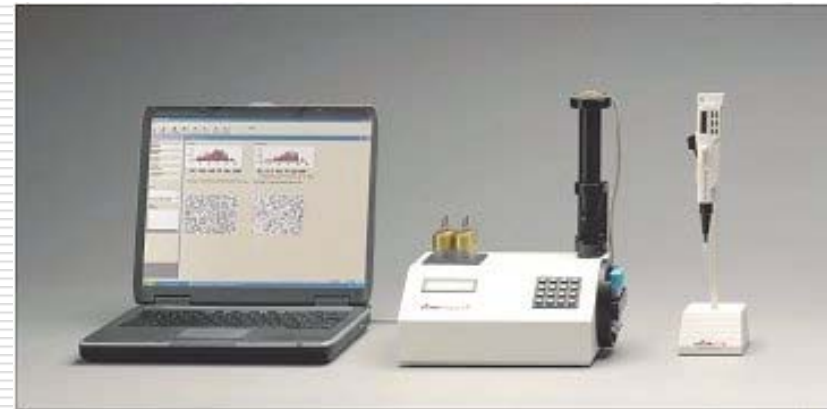
---

- Περιέχει ADP, προσταγλανδίνη E1 & ασβέστιο.
  - Χρήση σε άτομα που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή με αγωνιστές P2Y-12.
  - Παρατεταμένο αν παίρνει το φάρμακο.
  - Αντίσταση στο αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο
  - <106 SEC
-

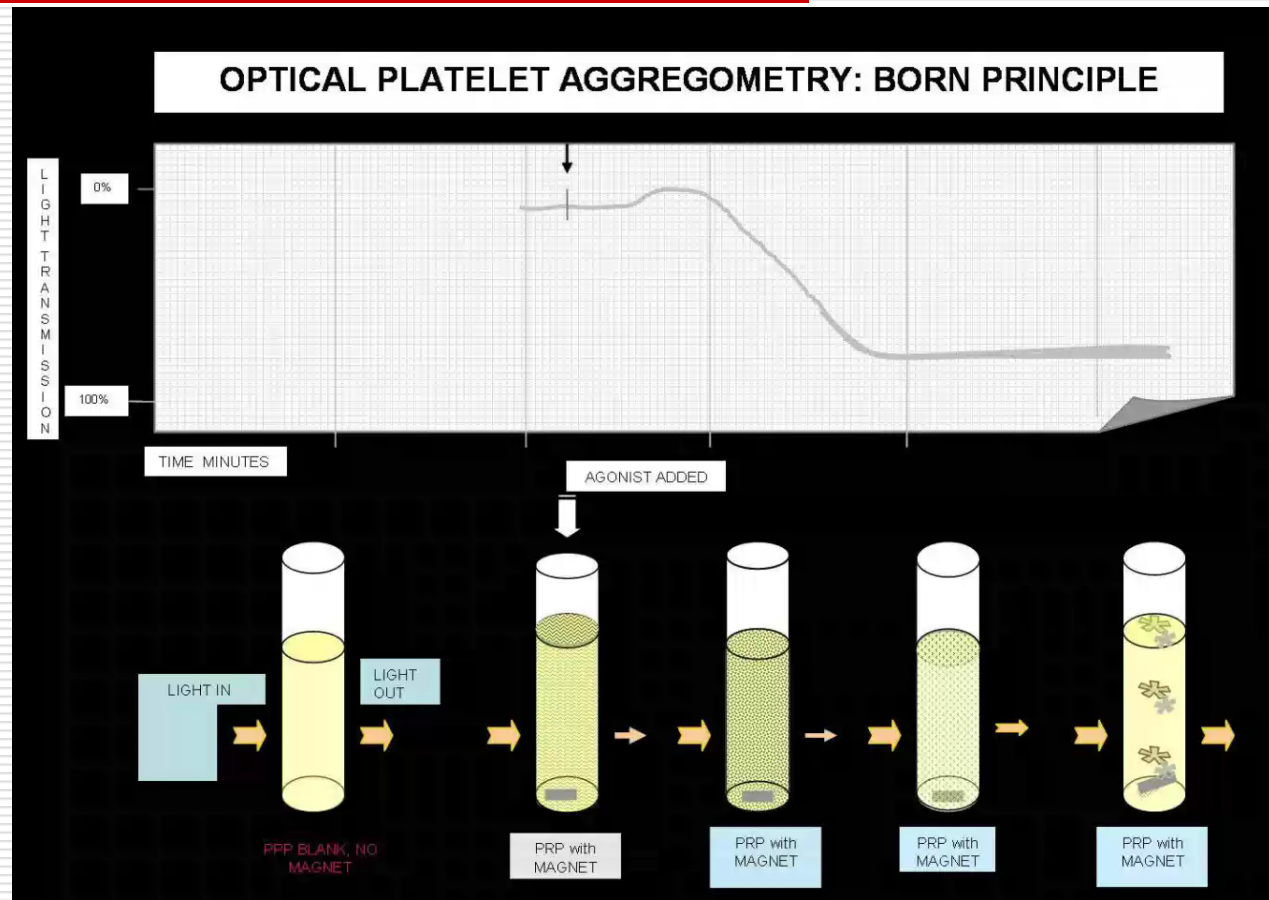
# IMPACT-R

---

- μελετά προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων κάτω από συνθήκες αυξημένης αρτηριακής τάσης
  - μικρή ποσότητα ολικού αίματος σε κιτρικό 0,13ml
  - αξιολογούμε δείκτη προσκόλλησης και συσσώρευσης σε 5 λεπτά
- 

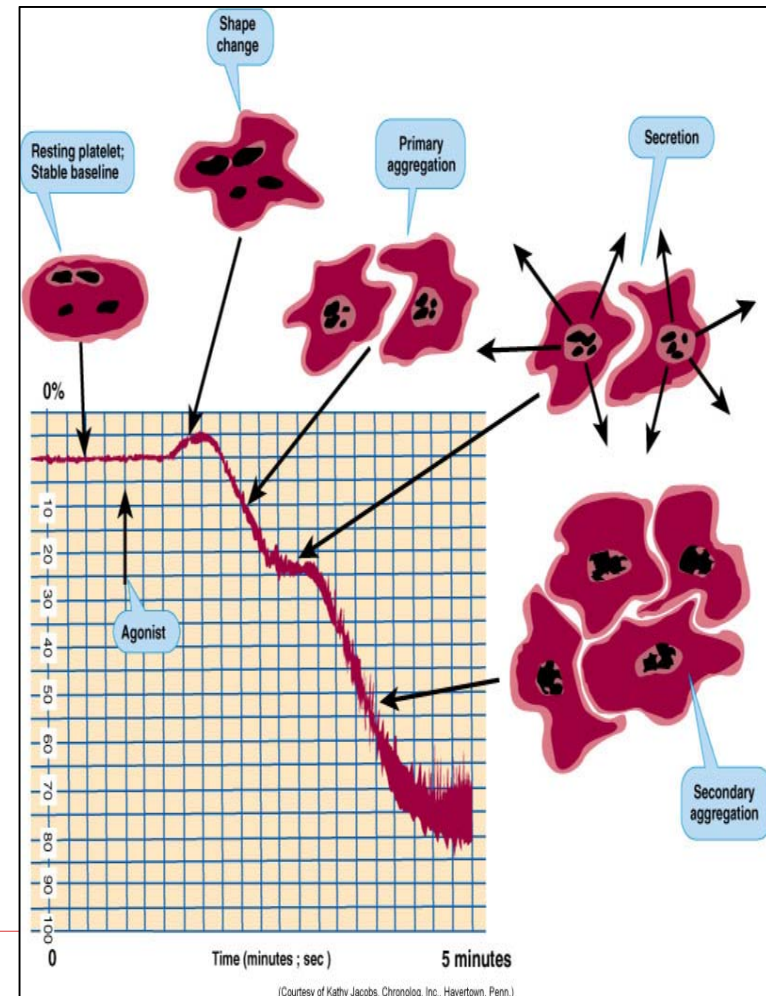
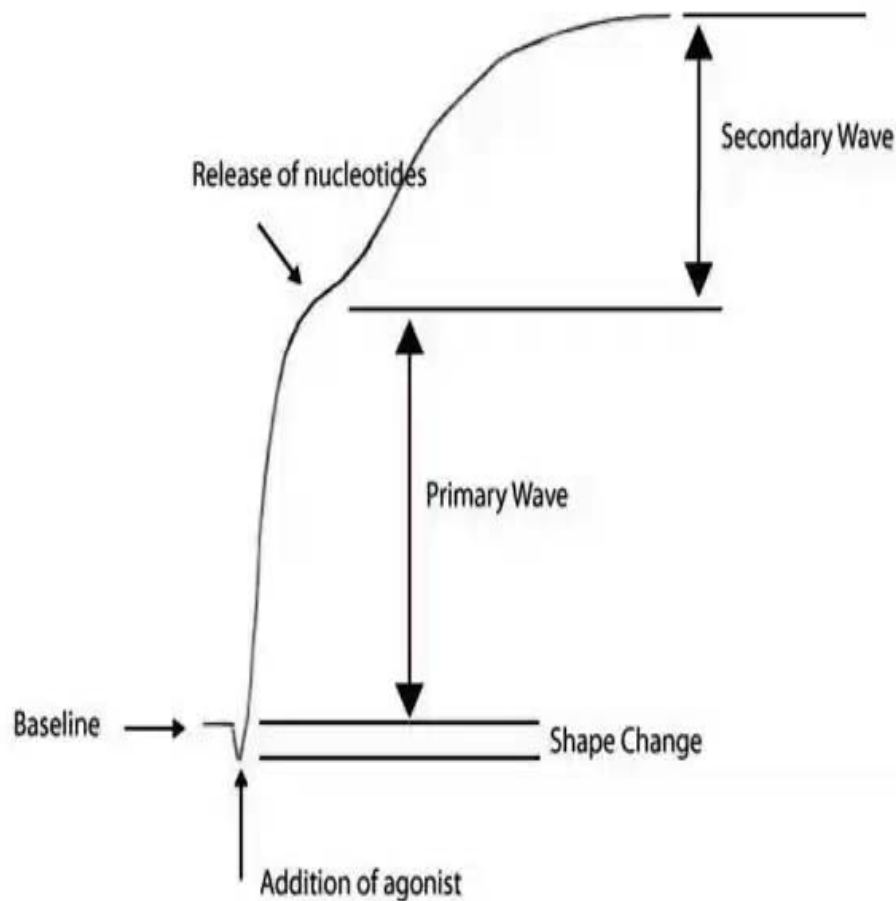


# Συσσώρευση αιμοπεταλίων gold standard method





# Αγωνιστές προκαλούν αρχική συσσώρευση και στη συνέχεια περαιτέρω συσσώρευση λόγω ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων



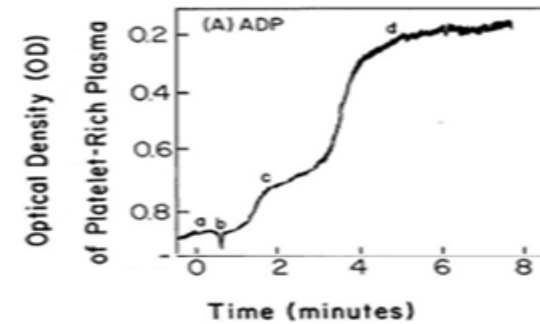
# Απαιτήσεις εξέτασης, ετών 54

---

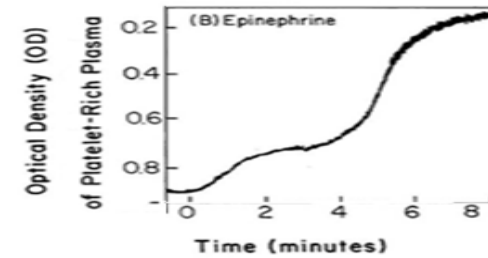
- 20 cc ολικού αίματος (κιτρικό) & εκτέλεση εντός 3 ωρών, ειδική φυγοκέντρηση για παρασκευή PRP
  - Αγωνιστές σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, όχι αιμολυμένο δείγμα (όχι λιπαιμικός ορός)
  - Αιμοπετάλια >100.000, αν >600.000 απαιτείται αραιώση
  - Φάρμακα, διατροφή, pH, θερμοκρασία, εξειδικευμένο προσωπικό
  - ...as much an art as a science...
-

---

- ADP

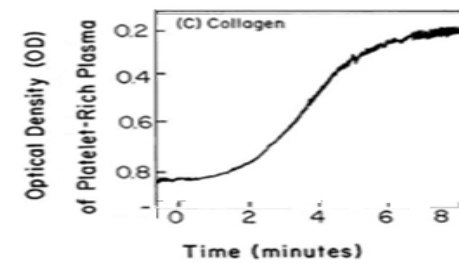


- EPINEPHRINE

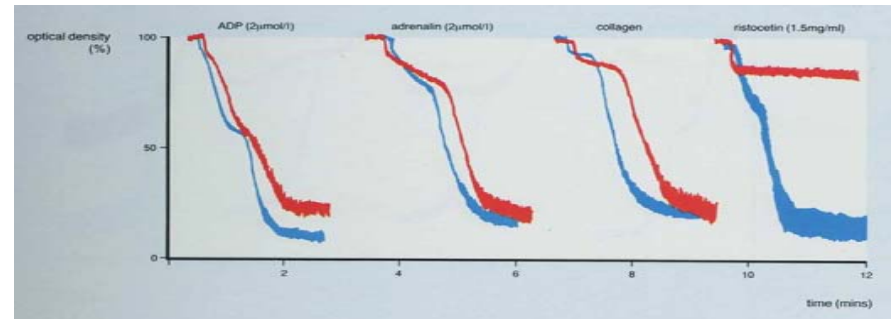


- COLLAGEN

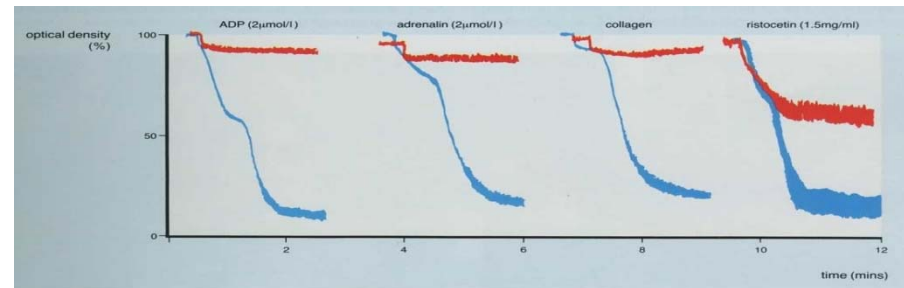
---



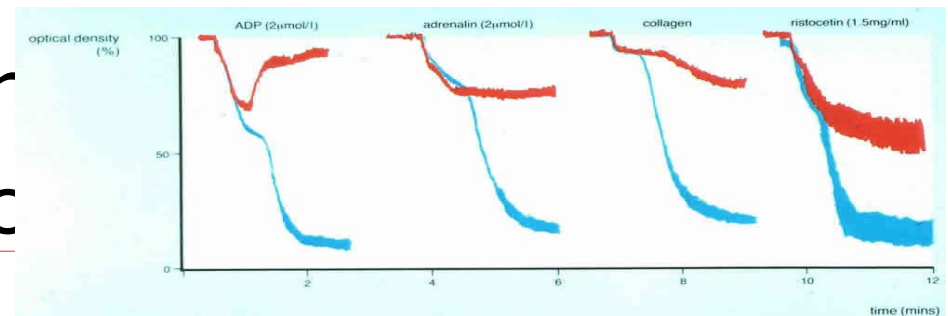
- von Willebrand/  
Bernar Soulier



- Glantzman



- Storage P Disorder
  - Nucl. release defec
- 
- WARD



## Platelet aggregation results in various disorders

Disorder	ADP	Collagen	Ristocetin 1.25 mg/ ml	Ristocetin 0.5 mg/ ml	Arachadonic Acid	Adrenaline
VWD type 1 and 2A	N	N	A/R**	A	N	N
VWD type 2B	N	N	N	H	N	N
Bernard-Soulier syndrome	N	N	A	A	N	N
Glanzmann's thrombasthenia	A	A	N	A	A	A
Storage pool disease	P/N	R/N	P/N	A	R/N	P/N
Cyclo-oxygenase defect*	R/N	R	N	A	R	R/N

N = Normal; A = Absent; R = Reduced; H = Heightened response; P = Primary wave only

\*Or Aspirin effect    \*\*Can be normal in mild VWD type 1

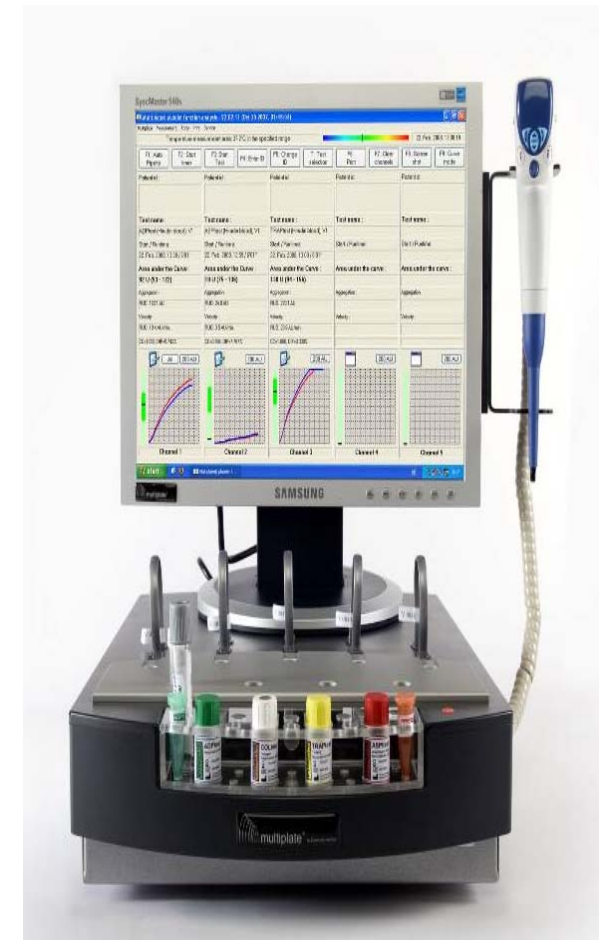
# Συσσώρευση αιμοπεταλίων (LTA)

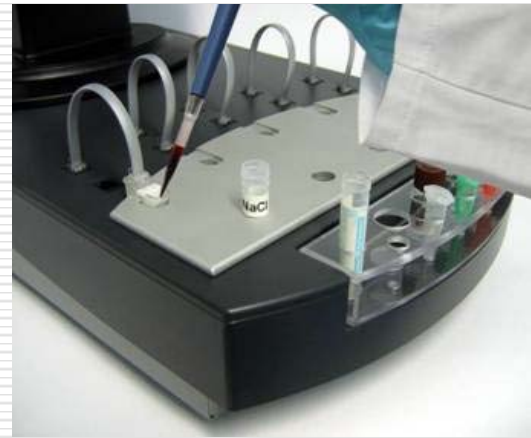
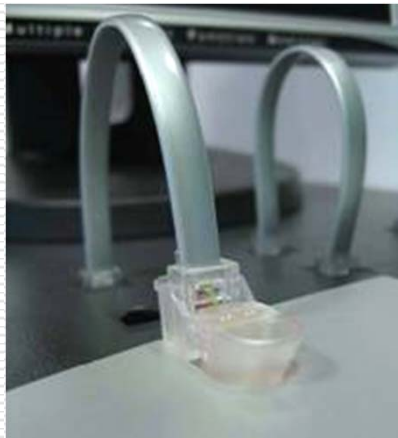
---

- Αυτόματη συσσώρευση αιμοπεταλίων χωρίς προσθήκη αγωνιστού, δείκτης αυξημένης ενεργοποίησης
  - Συσσώρευση ταχεία και στο 100% με ίδια συγκέντρωση αγωνιστών
  - Έλεγχος αντiaiμοπεταλιακής αγωγής (ADP, αραχ.οξύ)
-

# Μέθοδος μεταβολής αντίστασης **multiplate**

- ενεργοποίηση σε ολικό αίμα
- και σε χαμηλό αριθμό PLT
- γρήγορο, 0,3 ml αίματος
- όχι εξειδικευμένο προσωπικό
- μέτρηση αύξησης  
ηλεκτρικής αντίστασης  
μεταξύ ενεργοποιημένων  
αιμοπεταλίων







test	activation	sensitivity	not sensitive for
ASPItest	arachidonic acid: is converted to TXA2 by platelet-own cyclooxygenase	aspirin, IIb/IIIa antagonists	clopidogrel, vWF
ADPtest	ADP: binds onto platelet ADP receptors	clopidogrel, IIb/IIIa antagonists	aspirin, vWF
ADPtest HS	ADP + prostaglandin E1 (Prostaglandin is a natural inhibitor and enhances the sensitivity of the assay for clopidogrel)	clopidogrel, IIb/IIIa antagonists	aspirin, vWF
TRAPtest	TRAP-6 (thrombin receptor activating peptide): TRAP-6 is a potent agonist which mimicks the platelet-activating action of thrombin	IIb/IIIaantagonists	vWF, aspirin, clopidogrel (weak effect on TRAPtest)
COLtest	collagen: collagen activates platelet and triggers a release of arachidonic acid from the platelet membrane, which is converted to TXA2 by the Cyclooxygenase	aspirin, IIb/IIIa antagonists	clopidogrel, vWF
RISTOtest	Ristocetin: vWF dependent platelet activation via the Gplb receptor	Bernard-Soulier syndrome, severe vWD, aspirin	mild vWD

► κλινικές εφαρμογές

## The Antiplatelet Effect of Aspirin is Reduced by Proton Pump Inhibitors in Patients With Coronary Artery Disease

Morten Würtz, Erik L Grove, Steen Dalby Kristensen and Anne-Mette Hvas

## Clopidogrel affects leukocyte dependent platelet aggregation by P2Y<sub>12</sub> expressing leukocytes

Philipp Diehl · Christoph Olivier ·  
Christoph Halscheid · Thomas Helbing ·  
Christoph Bode · Martin Moser

## Heparin-induced multiple electrode aggregometry: a potential tool for improvement of heparin-induced thrombocytopenia diagnosis

I. ELALAMY,\* V. GALEA,\* M. HATMI† and G. T. GEROTZIAFAS\*

\*Service d'Hématologie Biologique, Hopital Tenon, Paris; and †Departement de Médecine Moléculaire, Institut Pasteur, Paris, France

## Cross validation of the Multiple Electrode Aggregometry

A prospective trial in healthy volunteers

Jolanta M. Siller-Matula; Ghazaleh Gouya; Michael Wolzt; Bernd  
Department of Clinical Pharmacology, Medical University of Vienna, Austria

Initial patency of the infarct-related artery in patients with acute ST elevation myocardial infarction is related to platelet response to aspirin<sup>☆</sup>

Bosko Skoric<sup>a,\*</sup>, Davor Milicic<sup>a</sup>, Daniel Lovric<sup>a</sup>, Ivan Gornik<sup>b</sup>,  
Kristina Narancic Skoric<sup>c</sup>, Jadranka Sertic<sup>d</sup>

## Clinical impact of monitoring the dual antiplatelet efficacy with impedance aggregometry in patients undergoing coronary stenting

Mehmet Mustafa Can, Hacer Ceren Tokgöz, Alper Özkan, Erdem Türkyılmaz,  
Taylan Akgün, İbrahim Halil Tanboğa, Can Yücel Karabay, Nurşen Keleş,  
Fatih Koca, Mustafa Sağlam, Kenan Sönmez, Cihangir Kaymaz

## Platelet Reactivity After Clopidogrel Treatment Assessed With Point-of-Care Analysis and Early Drug-Eluting Stent Thrombosis

Dirk Sibbing, MD, Siegmund Braun, MD, Tanja Morath, MS, Julinda Mehilli, MD,  
Wolfgang Vogt, MD, Albert Schömig, MD, Adnan Kastrati, MD, Nicolas von Beckerath, MD

# Screening test αρχικής αιμόστασης;

---

- Υπό εξέταση για τις αιμορραγικές διαθέσεις
  - Υψηλή ευαισθησία στην παρακολούθηση αντιαιμοπεταλιακής αγωγής π.χ αντίσταση στην κλοπιδογρέλη
  - περιεγχειριστική εφαρμογή σε αρκετές μελέτες
-

# verify now

---

- ειδική κασετίνα με συγκεκριμένο αγωνιστή
- ολικό αίμα και απλή ανάδευση
- συσσώρευση καταγράφεται ως φωτεινό σήμα
- ειδικά αντιδραστήρια για ασπιρίνη και P2Y<sub>12</sub>  
Ανταγωνιστές & IIb/IIIa.



# Accumetrics verify now

---



# Μέτρηση νουκλεοτιδίων με φθοριομετρία

- Στις διαταραχές αποθήκευσης -κοκκίων (storage pool disorders) λείπουν τα δ κοκκία, υπάρχει μείωση των ATP & ADP και αύξηση του λόγου  $ATP/ADP > 2$ .
- Φυσιολογικά  $ATP:ADP \text{ ratio} = 2:3$
- Αίτια κληρονομικά και επίκτητα

Νουκλεοτίδια	Τιμές αναφοράς
Σύνολο	5.5 - 9.6 nmol/ $10^8$
ATP	3.5 - 5.9 nmol/ $10^8$
ADP	1.9 - 3.8 nmol/ $10^8$
ATP/ADP	1.3 - 2.0 > 2 παθολογικό

# Κυτταρομετρία ροής

---

- Σημαίνονται τα αιμοπετάλια με αντισώματα εναντίον γλυκοπρωτεϊνών επιφανείας
  - CD41 για υποδοχέα GpIIb
  - CD61 για υποδοχέα GpIIIa
  - CD42 για υποδοχέα GpI b
  - ενεργοποίηση CD62b-P selectin
-

# Μοριακές μέθοδοι

---

Με βάση την κλινική εικόνα αναζήτηση συγκεκριμένου γονιδίου π.χ MYH9

Υπό μελέτη μοριακή βάση των διαταραχών.

---



# Δυνατότητες εργαστηριακής προσέγγισης λειτουργίας αιμοπεταλίων

---

- Μέτρηση αιμοπεταλίων και περιφερικό επίχρισμα
  - Χρόνος ροής/ pfa-100/ impact -R
  - Συσσώρευση αιμοπεταλίων in vitro με χρήση αγωνιστών
  - Άλλες μέθοδοι συσσώρευσης
  - Μέτρηση νουκλεοτιδίων
  - Κυτταρομετρία ροής
  - Μοριακές μέθοδοι
-

# In vitro & in vivo;

---

χρόνος ροής έχει εγκαταλειφθεί /  
PFA-100;

πόσες φορές πρέπει να επαναληφθεί η  
κάθε δοκιμασία;

αλλάζουν οι φυσιολογικές τιμές με το  
χρόνο;

*(Rajasekhar D et al. 1994, 1997, << Neonatal platelets  
are less reactive than adult platelets to  
physiological agonists in whole blood >>*

---

# Είναι εν τέλει χρήσιμα στην κλινική πράξη;

---

- Εξαρτάται ...
  - Χρήσιμα στην διάγνωση αιμορραγικών διαταραχών και εδώ θα πρέπει να ακολουθηθεί αλγόριθμος...
  - Δεν έχει λυθεί το θέμα του monitoring της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής
  - Κρίση κλινική με τη βοήθεια εργαστηριακού ελέγχου
  - Ιστορικό απαραίτητο
-

# Διερεύνηση λειτουργικής διαταραχής αιμοπεταλίων

---

## Αιμορραγικό ιστορικό και οικογενειακό ιστορικό

Περιφερικό πλακάκι για μελέτη αιμοπεταλίων (μέγεθος) και έγκλειστων στα λευκά αιμοσφαίρια

↓  
Συσσώρευση σε κλασικό αγγρεγγόμετρο με arachidonic acid, ADP, adrenaline, collagen and ristocetin

### **Αν φυσιολογικό**

Χρόνος ροής

PFA-100

### **Αν παθολογικό**

Platelet ADP/ATP ratio

Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο

Flow cytometry

---

qryDetails

Find Department Patient

Add This Patient

Add New Patient

Name Department no Date of Birth

Sex: ethnicity diagnosis

NewPat: Department no Date of Birth

gender: Ethnicity: Diagnosis:

General Platelet Coagulation etc

History

Family History Fam Tree:

Genetics

Green card

Auditors Interpr

Remarks

qryDetails

Find Department Patient

Add This Patient

Add New Patient

Name  Department no  Date of Birth

Sex:  ethnicity  diagnosis

NewPat:  Department no  Date of Birth

gender:  Ethnicity:  Diagnosis:

General Platelet Coagulation etc

	TestDate: 11/11/2001	TestDate: <input type="text"/>	TestDate: <input type="text"/>
<b>Platelet Aggregation Studies:</b>	<b>Units</b>	<b>Normal Range</b>	
2mM ADP	%		<input type="text"/>
3mM ADP	%		<input type="text"/>
10mM ADP	%		<input type="text"/>
2mM Adrenaline	%		<input type="text"/>
3mM Adrenaline	%		<input type="text"/>
10mM Adrenaline	%		<input type="text"/>
1mg/ml Collagen	%		<input type="text"/>
2mg/ml Collagen	%		<input type="text"/>
0.5mg/ml Ristocetin	%		<input type="text"/>
1.0mg/ml Ristocetin	%		<input type="text"/>
1.25mg/ml Ristocetin.	%		<input type="text"/>
1.5 mg/ml Ristocetin	%		<input type="text"/>
1mM Arachidonic Acid	%		<input type="text"/>
Spontaneous Aggregation	%		<input type="text"/>
Platelet VWF			<input type="text"/>
<b>Platelet Adenine Nucleotides:</b>			
PRP Platelet count	x 10 <sup>9</sup> /l	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**qryDetails**

Find Department Patient

Name  Department no  Date of Birth

Sex:  ethnicity  diagnosis

NewPat:  Department no  Date of Birth

gender:  Ethnicity:  Diagnosis:

General Platelet Coagulation etc

FVIII:C  VWF:Ag

FXI (Eleven):  VWF:RCo

Collagen Binding Assay (CBA)

Blood Smear

**Chronolog Reference Ranges**

	Platlet rich plasma (PRP)				Whole Blood				
	Aggregation (%)	ATP release (nM)			Aggregation (ohms)	ATP release (nM)			
prpADP 5µM	69-88	<input type="text"/>	0.41-0.63	<input type="text"/>	wbADP 5µM	1-17	<input type="text"/>	0-0.7	<input type="text"/>
prpADP 10µM	71-88	<input type="text"/>	0.5-1.06	<input type="text"/>	wbADP 10µM	6-24	<input type="text"/>	0.37-1.71	<input type="text"/>
prpCollagen 2µg/mL	70-94	<input type="text"/>	0.74-1.92	<input type="text"/>	wbCollagen 2µg/mL	15-27	<input type="text"/>	0.5-1.7	<input type="text"/>
prpAracAcid 0.5mol	74-99	<input type="text"/>	0.56-1.40	<input type="text"/>	wbAracAcid 0.5mol	5-17	<input type="text"/>	0.6-1.4	<input type="text"/>

# Είναι εν τέλει χρήσιμα στην κλινική πράξη;

---

- **Δεν έχει λυθεί το θέμα του monitoring της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής ούτε της αντίστασης στα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα**
  - **PFA-100 για P2Y12**
  - **Multiplate**
  - **Verify now**
  - **Κλασσική συσσώρευση με αγωνιστές ADP & AR. ACID**
  - **Δεν υπάρχουν μελέτες τροποποίησης αγωγής με βάση το εργαστηριακό εύρημα**
  - **Κρίση κλινική με τη βοήθεια εργαστηριακού ελέγχου**
-





**Οι αιμοδότες  
είναι**

**ξεχωριστοί άνθρωποι**



**Ν.Υ.ΑΙΜΟΔΟΣΙΑΣ  
ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ**