

# HEPARINEM INDUKOVANÁ TROMBOCYTOPENIE

Penka M., Novotný J., Zavřelová J.  
OKH a Trombotické centrum  
FN Brno

# Muž, 67 let

- Akutní polyradikuloneuritis
- PE – CT angiografie
- UFH 2 dny, poté LMWH (Fraxiparin)
- TRC 181... 5. den 98....19 x 10<sup>9</sup>/l
- Ischemie LDK, trombus AFC I. sin.
- HIT Diamed opakovaně +, agregace silně + se všemi dostupnými hepariny
- Refludan s přechodem na Warfarin – vzestup TRC, zlepšení ischemie
- Trombektomie AFC I. sin. krytá fondaparinuxem 7,5 mg/d s přechodem na Warfarin

# Patofyziologie HIT

- **HIT I**

- pravděpodobně přímý proagregační efekt heparinů
- může predisponovat k HIT II ?
- Mírný pokles TRC od 1. dne léčby, spontánní úprava

- **HIT II**

- tvorba protilátek proti komplexům GAG/PF4, vzácně jiné
- následná aktivace TRC vazbou Ig na FcR = další uvolnění PF4 a aktivace Mo a endotelu

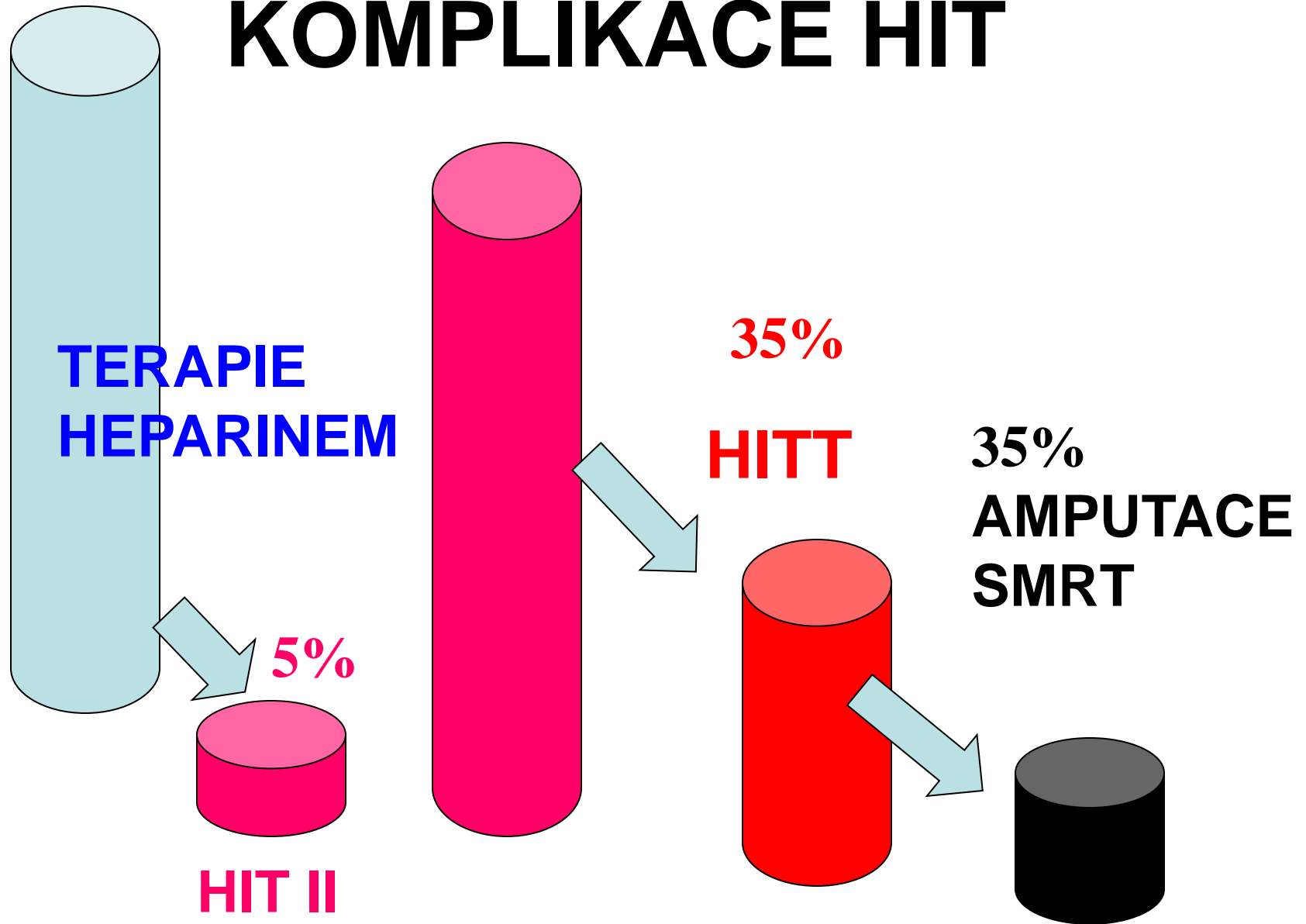
# HIT II

- **5. - 15. den léčby**
- **u senzibilizovaných i dříve**
- **stačí stopová množství heparinu !  
(proplachy)**
- **asi u 5% „delayed-onset HIT“ několik dní po vysazení GAG**

# HIT II

- **komplexní klinický syndrom**
- **0,5 – 5 % pacientů s expozicí hepariny**
- **cca 1/3 spojena s trombózou (HIT/T)**
- **cca 1/3 HIT/T amputace končetin a/nebo úmrtí**

# KOMPLIKACE HIT



# Diagnosa HIT II

## Klinický obraz

- zhoršení stávajících a/nebo vývoj nových trombóz (VTE, akutní končetinová ischemie, CMP, IM...)
- kožní nekrózy
- vznik **“rezistence“** na heparin

**Predispozice** - ateroskleróza, žilní insuficience, imobilizace, sepse, operace...

*Nutno hledat jiné příčiny trombocytopenie*

# The Pathogenesis of **Venous Limb Gangrene** Associated with HIT

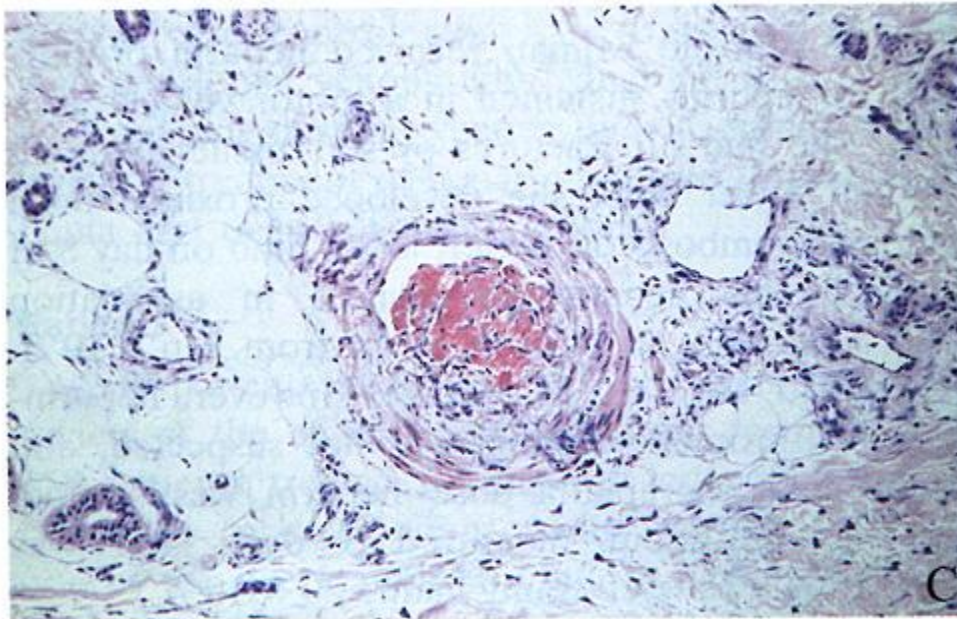
Warkentin et al, Ann Int Med 127,9:804







Destičkový  
trombus ve  
venule



# Laboratorní diagnostika HIT

- pokles TRC o 30 - 50% a/nebo pod 100-150 G/I – od 5. dne podávání H  
*(asi u 5% pacientů až po vysazení GAG !, u senzibilizovaných během 24 hod !)*
- biologické (funkční) testy
- serologické (imunologické) testy
- ex post – postupný vzestup TRC po vysazení heparinu, ale někdy pomalý

# Laboratorní testy HIT

## Testy serologické - imunologické

- vyšetření protilátek proti Heparin/PF4
  - kvalitativní testy - průkaz přítomnosti/nepřítomnost
  - ELISA - průkaz protilátek různých tříd IgG, IgM a IgA

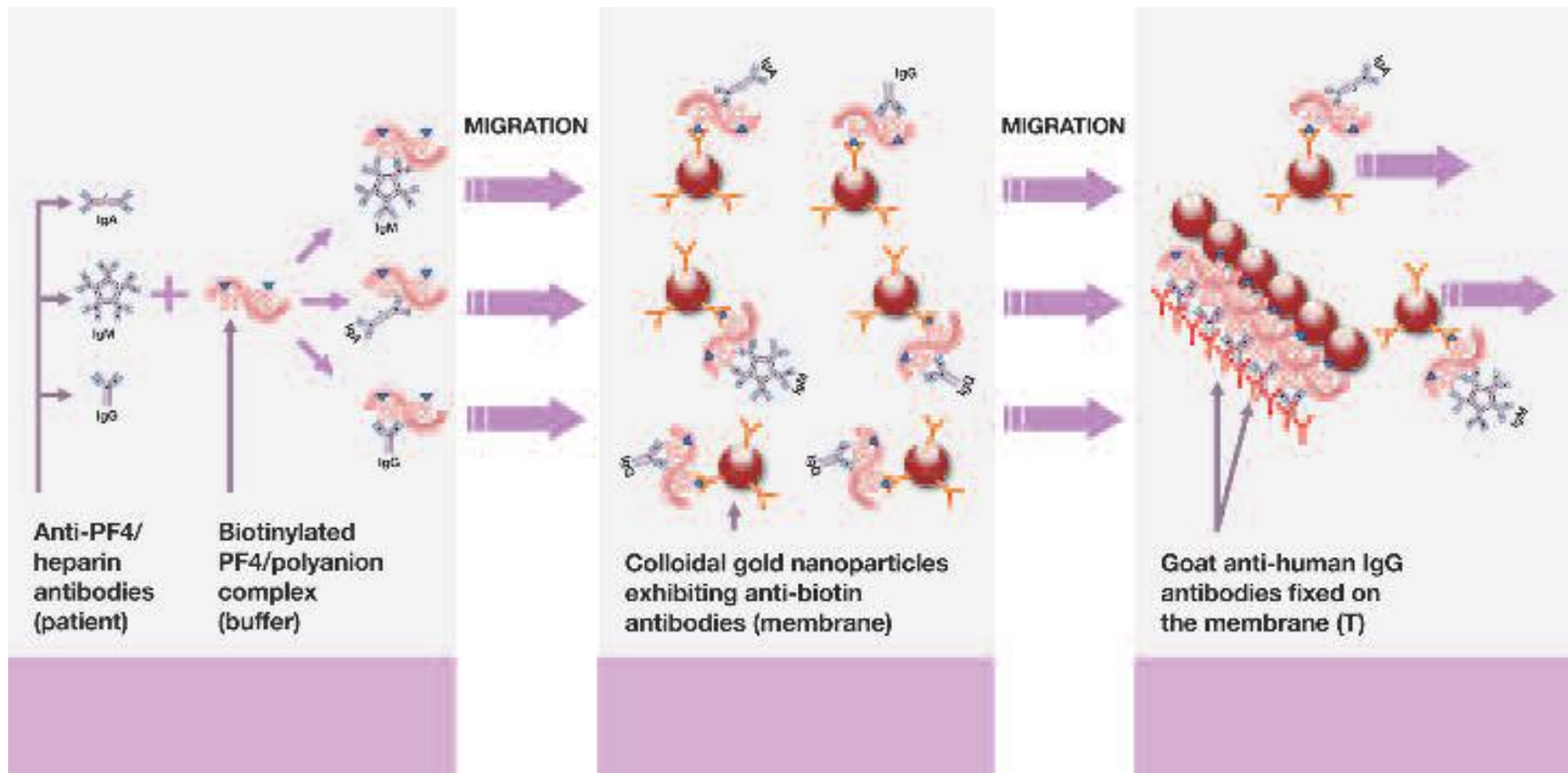
## Testy biologické - funkční

- vyšetření schopnosti HIT protilátek aktivovat normální trombocyty jen v přítomnosti heparinu (ne v jeho nepřítomnosti a/nebo při jeho vysoké koncentraci)
  - destičkový agregační test
  - test uvolnění serotoninu (referenční metoda)
  - průkaz uvolnění destičkových mikropartikulí (flowcytometrie, ELISA), event. jiné

# Algoritmus vyšetřování HIT

- **Imunologické metody**
  - **LFIA (lateral flow immunochromatografy assay) HIT**
    - mimo denní režim pracovních dní
    - z časových důvodů v denním režimu pracovních dní
    - nízká/střední pravděpodobnost HIT
  - **ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) HIT**
    - střední/vysoká pravděpodobnost HIT
    - pozitivita LFIA HIT
- **Funkční metoda**
  - **agregace HIT**
    - pozitivita ELISA IgG

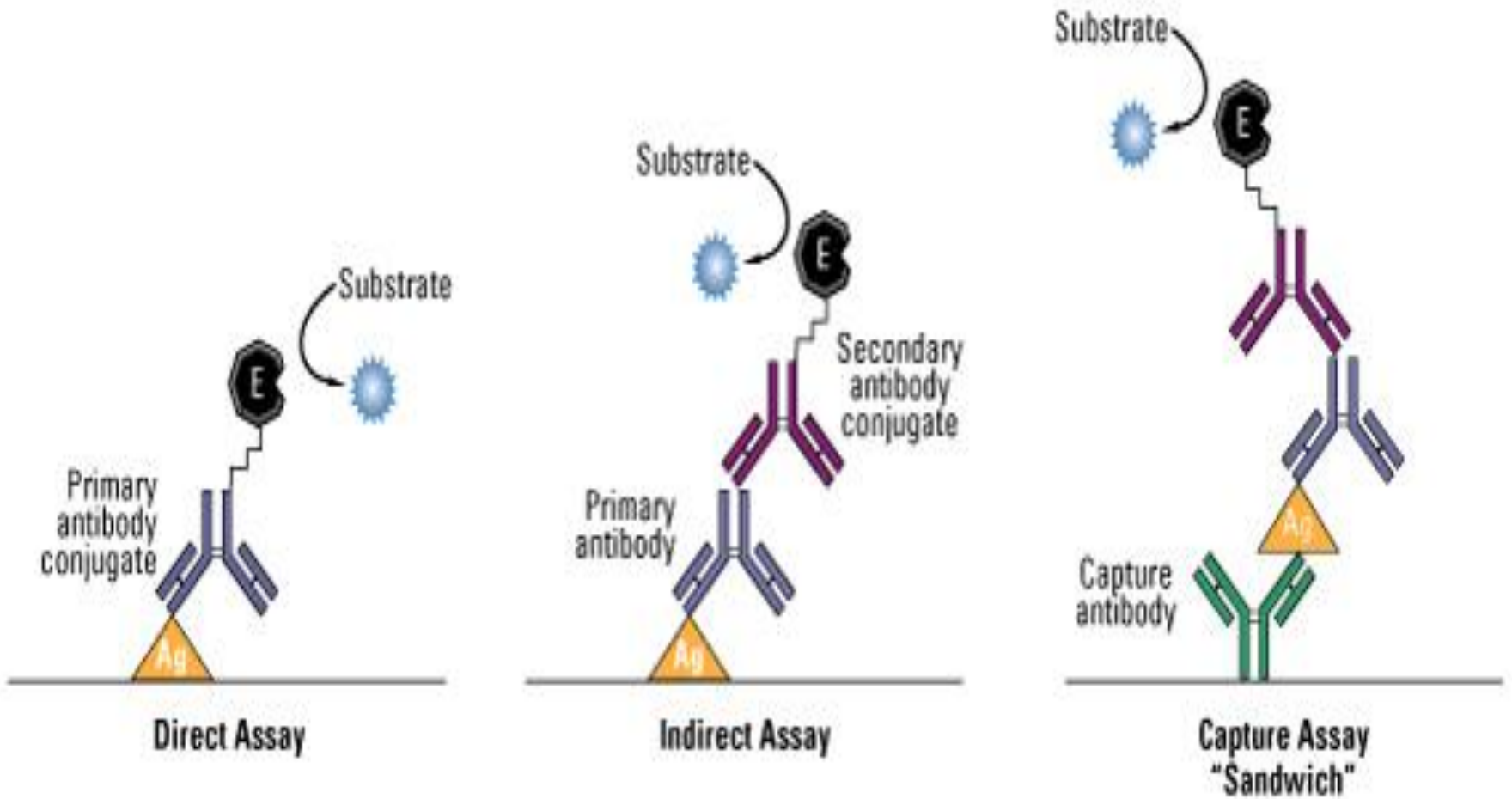
# LFIA HIT - princip



# ELISA HIT

- Zymutest HIA IgG, IgA, IgM (Hyphen Biomed)
- **pozitivita** až u 50% pacientů od 7. dne podávání H (pacienti po výkonech v ECC)
- **HIT *overdiagnosis***
- lze stanovit i titr protilátek
- až v 10% HIT jiné Ag ( IL,  $\beta$ TG aj..)
- patogenní vs. pouze IgG

# ELISA HIT - princip



# Biologické testy na HIT

- **Agregace** – vysoká specifita, nízká senzitivita (až 50% potvrzených HIT negativní)
- **SRA** – zlatý standard, málo dostupný, radioaktivní (x **HPLC**)
- **HIPA** (H-induced platelet activation – *Greinacher et al*) vizuální test na mikrotitračních destičkách jiné lab. nedosahují udávané sens/spec, ruší zákal
- **lumiagregometrie** (ATP release)
- **flowcytometrie** platelet-derived microparticles, exprese P-selektinu, aktivace GPIIb/IIIa
- Vyšší senzitivita/specifita u testů s promytými TRC



# Destičkový agregační test

- Vyšetření agregace trombocytů normálu (PRP) v přítomnosti heparinu a plazmy (PPP) pacienta
  - porovnání agregační odezvy
    - v přítomnosti heparinu
      - v terapeutické koncentraci ( 1 U / ml)
      - a vysoké koncentraci ( 100 U / ml)
        - » vyloučení falešné positivity
        - » štěpení imunokomplexů při vysoké koncentraci heparinu
    - v nepřítomnosti heparinu (fyziologický roztok)

# HIT

TE Warkentin, Drug Safety 17,5:325

| Testy                    | Senzitivita % | Specificita % |
|--------------------------|---------------|---------------|
| Uvolňování serotoninu    | > 90          | > 90          |
| Agregace s promytými trc | > 90          | > 90          |
| Agregace s PRP           | 50 - 80       | 80 - 90       |
| Heparin-PF4 ELISA        | 75 - 90       | 75 - 90       |

# „4T pretest probability score“

|  | 2 body   | 1 bod  | 0 bodů  |
|--|--|--|---|
| <b>T</b> rombo-penia                     | Pokles o > 50% a nadir > 20 G/l  | Pokles o 30-50% neb nadir 10-19G/l   | Pokles <30%, nebo nadir <10 G/l                                 |
| <b>T</b> iming                           | 5.-10. den (počátek sestupu počtu desiček), u senzibilizovaných v 30 dnech 1.den po podání | Nejasný počet dní  | Pokles v méně jak 4 dnech bez předchozí senzibilizace heparinem |
| <b>T</b> hrombosis                       | Konfirmace nové trombózy, celková systémová reakce na heparin, kožní nekróza               | Progresivní nebo rekurenttrombóza, nekrotické kožní léze, suspektní trombóza (?) |   |
| <b>o</b> T her cause of thrombocytopenia | Není zřejmá  | Možná  | Definitivní   |

Velmi 6-8 bodů, středně 4-5 bodů , málo pravděpodobné pod 3 body

# Diferenciální diagnostika při podezření na HIT

- DIC
- APS
- TTP, HUS
- AITP
- potransfuzní purpura
- dřevňový útlum

# TROMBOPENIE BEZ HIT

- v **kardiochirurgii** běžný pokles TRC pod 150 G/l, většinou nad 100 G/l (**ECC,CBP**)
- u 50% i více pacientů po ECC pozitivní **ELISA na HIT-Ig** bez klinického korelátu
- nejčastější příčinou trombocytopenie jsou **septické stavy a syndrom DIC**, často u pacientů s podávanými GAG
- častou příčinou poklesu destiček jsou větší pooperační krvácení, **rozsáhlé op. výkony a traumata**

# HIT(T) BEZ TROMBOPENIE

- pokles trombo o **30-50%** ALE:
  - častá **reaktivní trombocytosa** ( akutní trombosa, pooperační, neoplasie...)
  - **aktivace trombopoezy konzumpcí trombocytů**
  - **celková alergická reakce** ( vzácně)
- před aplikací heparinu nutno vždy stanovit počet trombocytů !!**

# HIT paradoxy

(TE Warkentin: J Thromb Haemost 2011, S1:105-117)

- **„overdiagnosis“ HIT(T)**
- **převažují venózní trombózy**
- **„delayed“ či autoimunní HIT i po vysazení H, aktivace trombocytů bez přítomnosti H, TRC 150 G/l i déle než 30 dní**
- **spontánní HIT**
- **Fondaparinux v léčbě účinný i přes pozitivní testy na výskyt protilátek *in vitro***
- **Po 100 dnech** možno bezpečně nasadit H?

# Reexpoze H u HIT

- Titr protilátek klesá, **po 100 dnech** u většiny nemocných negativní
- **Nedochází k anamnestické imunitní odpovědi**
- **Rekurenci HIT však nelze vyloučit (!)**  
(TE Warkentin, J Thromb Haemost 2011, S1: 105 – 117)



# Terapie HIT

- **Vysazení H**
- **Zvážit, zda je nutná alternativní antitrombotická léčba? (po vysazení GAG pokračuje zvýšená generace IIa)**
- **LMWH jsou dle většiny autorů KI - negativní testy invitro nevyklučují cross-reakci in vivo**

# Terapie HIT

- Lepirudin (*Refludan* – již není k disp.) – *př.i.IIa*
- **Pentasacharidy (Arixtra)**
- Argatroban (*Argatra, Exembol*) – *př. inhib. IIa*
- Bivalirudin (*Angiox*) – *př. inhib. IIa*
- Danaparoid (*Orgaran*) – *inhib. Xa*
- Kumariny (*Warfarin* při vzestupu destiček na  $100 - 150 \times 10^9/l$ )

# Dávkování non-heparinových antikoagulancií

| Lék          | bolus       | Kont.inf./s.c.                               | monitoring |
|--------------|-------------|--|------------|
| argatroban   | 0           | 2 ug/kg<br>těl.hm./min.                      | APTT       |
| danaparoid   | 1500-3750 U | 400 U/hod. 4<br>hod.<br>300 U/hod. 3<br>hod. | Anti-Xa    |
| bivalirudin  | 0           | 0,15<br>mg/kg/hod.                           | APTT       |
| fondaparinux | 0           | 5..7,5..10 mg<br>s.c.                        | Anti-Xa    |
| NOAC         | ?           | ?  |            |

# Terapie HIT

- IVIg
- plazmaferéza
- trombolýza ( zvl. „lokální„)
- trombektomie
- rTFPI

# Diagnostické závěry – Walenga et al.

- klinický i laboratorní průběh HIT(T) vysoce variabilní
- potvrzena **nejvyšší sensitivita a nejnižší specifita ELISA testů na HIT-Ig**
- dosud **neexistuje maximálně spolehlivý laboratorní test** na HIT
- šance na confirmaci HIT(T) se zvyšuje **kombinací testů a opakovaným vyšetřením**
- nejspolehlivější průkaz HIT(T) představuje **vzestup TRC po vysazení GAG**

# Terapie HIT

- Nutno vysadit H
- Inhibitory IIa (Refludan stažen z trhu)
- Argatroban
- Danaparoid Orgaran<sup>R</sup>
- **Fondaparinux Arixtra<sup>R</sup>**
- Warfarin až PLT nad 100-150 G/l, s přemostěním jiným AT

**Nová AT?**

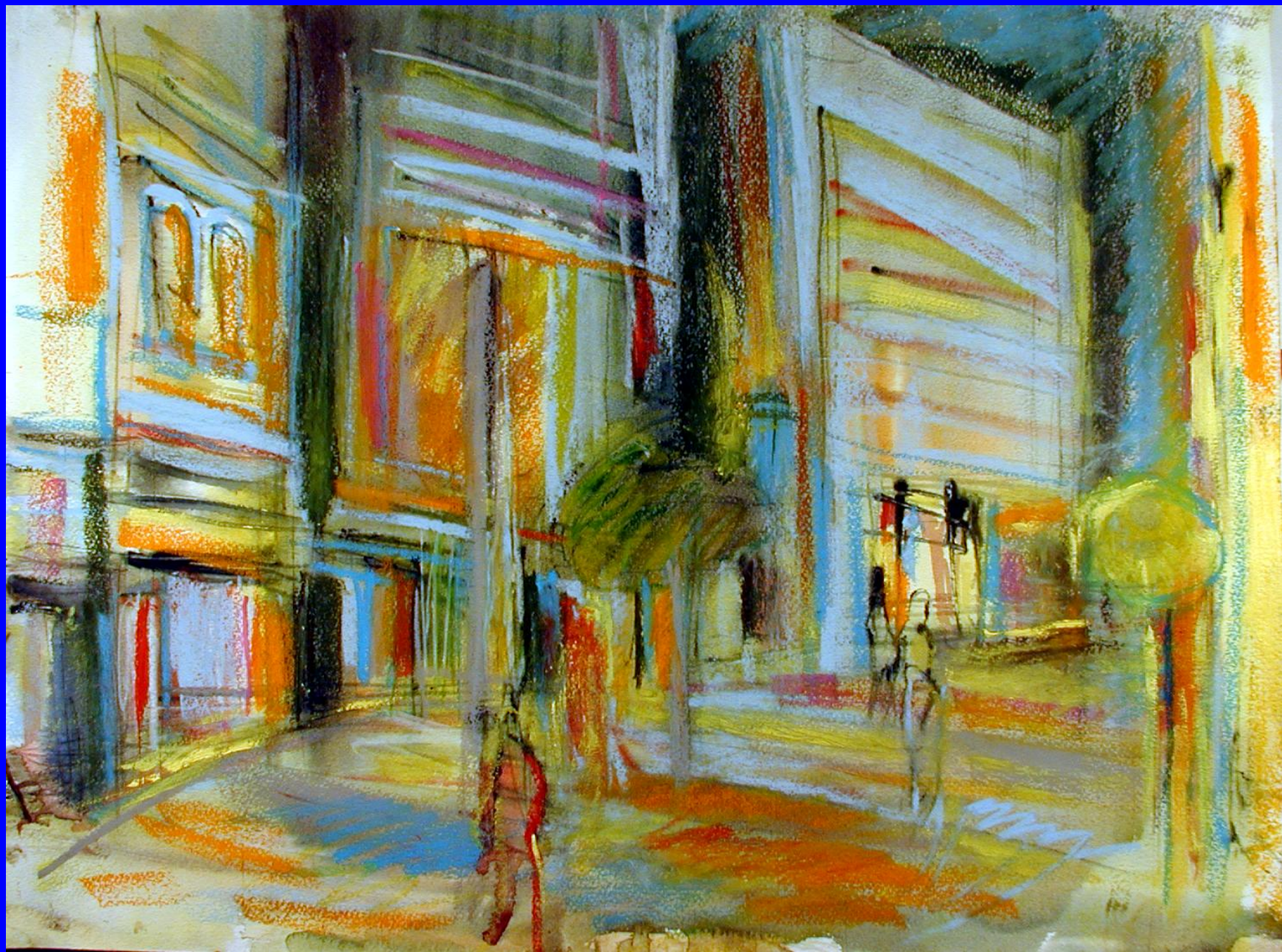
# Závěry

- Syndrom HIT je **nejzávažnější komplikací léčby H s velkou klinickou i laboratorní variabilitou**
- Je multidisciplinární problém
- Imunologická reakce není do podrobností objasněna
- Od čtvrtého dne podávání H kontrolovat Trc
- Diagnostiku HIT je výhodné soustředit do větších center a diagnózu **konfirmasiovat baterií 2-3 testů**
- Při vysokém suspiciu na HIT nutno GAG vysadit i **při negativitě testů in vitro, léky volby přímé inhibitory IIa**



# Odnesu si domů...

- V případě důvodného podezření na HIT je nutné ukončení podávání heparinu a je třeba využití jiného antitrombotika
- Pokud jsou testy z obou skupin vyšetření negativní, pak je HIT málo pravděpodobná
- U heparinizovaných je třeba na komplikaci myslet a od 4. dne počet TRC kontrolovat



Orlí, akvarel & olej.pastel, 2004

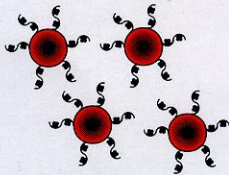
# HIT Dg. - particle gel immunoassay

- Diamed test – **ID-HPF4**
- Polystyr. částice, potažené komplexy PF4/H
- Protilátky v séru/plazmě pacienta způsobí aglutinaci **analogicky k aglutinaci erys v imuno hematologické diagnostice**
- Nutná pozitivní a negativní kontrola
- Celý test trvá 15 minut

# Diamed test

## Prinzip

HPF4 Polymer Partikel



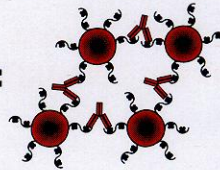
+

HIT Antikörper



=

Partikel Agglutination



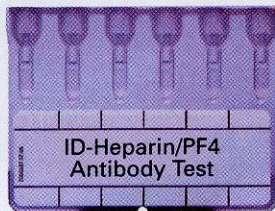
=



Positives  
Testergebnis

## Methode

10 µl Serum/Plasma  
50 µl Partikelsuspension



5 Minuten  
stehenlassen



10 Minuten  
zentrifugieren



AbleSEN



# PIFA test

- **Particle ImmunoFiltration Assay**
- Heparin/PF4 + sérum pac.
- V případě agregace partikule neprojdou filtrem – není modré zbarvení v reakčním okénku
- **Bed-side test, cca 10 min**
- Agreement s ELISA cca 97%
- Test druhé generace – markantnější modrá
- Nevýhoda – pozitivní i u netrombogenních protilátek

# Nové testy

- \* **HIMEA – heparin induced multiple electrode aggregometry**

# Walenga et al - výsledky

- medián 82 G/I a 66,5 G/I u HIT a HITT
- **sensitivita** agregace 26%, SRA 55%, ELISA 64%
- **specifita nejvyšší** u agregace, **nejnižší** u ELISA
- **panel 3 testů** zvyšuje sensitivitu na 83%
- jsou možné **všechny kombinace pozitivních a negativních testů na HIT-Ig**
- **17% agregací** bylo SRA-, **16% ELISA-**, **5% oba neg**
- byla tendence k **vyšším ELISA titrům** u HITT, ale nelze klinicky využít ( velký rozptyl ), různé ELISA testy různě citlivé

# Funkční testy

- Agregace TRC
- **Multiplate impedanční agregometrie**
- HIPA (Greinacher 1991)
- SRA
- **SRA modifikace HPLC**
- Lumiagregometrie
- **Flow cytometrie** (vazba anexinu V, aktivace GP IIb/IIIa, mikropartikuly, P selektin CD62P)



Děkuji Vám za pozornost

