

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Antonela Čirko

Nasljedni poremećaji funkcije trombocita u djece

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Ernesta Bilića i predan na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ernest Bilić

Kratice

GPIb/IX

GPIa/IIa

GPIIb/IIIa

VWF von Willebrandov faktor

ADP adenzin fosfat

TXA₂ tromboksan A₂

TF tkivni faktor

TF-VIIa kompleks tkivnog faktora s faktorom zgrušavanja VII

APC aktivirani protein C

tPA tkivni plazminogen

BSS Bernard – Soulierov sindrom

GT Glanzmannova trombastenija

CPB kardiopulmonalna ekstrakorporalna cirkulacija

COX ciklooksigenaza

rFVIIa rekombinantni čimbenik zgrušavanja

dDAVP dezmopresin

SADRŽAJ:

Sažetak

Summary

1. Uvod	1.
1.1. Fiziologija hemostaze	2.
1.1.1. Funkcija trombocita u mehanizmu zgrušavanja krvi	4.
1.1.2. Testovi funkcije trombocita	5.
1.2. Anamnestički podaci u djeteta sklonog krvarenju	6.
1.3. Uzroci nastanka poremećaja kod nasljednih poremećaja funkcije trombocita	7.
1.3.1. Poremećaj adhezije	9.
1.3.2. Poremećaj agonista receptora	9.
1.3.3. Poremećaj prijenosa signala	10.
1.3.4. Poremećaj sekrecije	11.
1.3.5. Poremećaj agregacije	12.
1.3.6. Poremećaj interakcije trombocita i faktora koagulacije	13.
1.4. Jatrogeno izazvani poremećaji funkcije trombocita	15.
1.5. Trombocitopatije povezane s drugim poremećajima	17.
1.6. Terapija krvarenja kod djece s poremećajem funkcije trombocita	18.
2. Cilj rada	20.
3. Ispitanici i metode	21.
4. Rezultati	22.
5. Rasprava	32.
6. Zaključak	34.
7. Zahvale	35.
8. Literatura	36.
9. Životopis	39.

Sažetak

Antonela Čirko: Nasljedni poremećaji funkcije trombocita u djece

Kvalitativni poremećaji funkcije i stvaranja trombocita čine veliku skupinu pojedinačno rijetkih bolesti koje pokrivaju mnoštvo genetskih defekata slične kliničke slike najčešće u obliku mukokutanih krvarenja. Nasljedne trombocitopatije mogu imati cijeli spektar različitih manifestacija od petehija i modrica do spontanih krvarenja. Zbog najčešće blagih simptoma često ostaju neotkrivene. Nešto se češće dijagnosticiraju u žena u vrijeme puberteta zbog produljenih menstruacija.

Cilj rada bilo je ustanoviti intenzitet i učestalost krvarenja kod djece s poremećenom funkcijom trombocita, a obuhvaćena su djeca u dobi od rođenja do navršenih 18 godina života kojima je dokazan poremećaj funkcije trombocita, a koja su obrađivana u Zavodu za hematologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u vremenskom razdoblju od 1. siječnja 1999. godine do 31. prosinca 2013. godine. Rezultati su pokazali dvostruko veću učestalost u djevojčica među kojima je najčešće izraženi simptom bila obilna mjesečnica.

Ključne riječi: trombocitopatije, djeca

Summary

Antonela Čirko: Hereditary disorders of platelet function in children

Qualitative disorders of platelet function constitute a large group of individually rare diseases that cover a multitude of genetic defects with similar clinical picture as frequent mucocutaneous bleeding. Hereditary thrombasthenias are a relatively rare cause of hemorrhagic diathesis, but can have a whole range of different manifestations of petechiae and bruises to spontaneous bleeding. Because usually mild symptoms often remain undetected. Among women in the fertile period they are a common cause of unexplained menorrhagia.

The aim of the study was to determine the intensity and frequency of bleeding in children with impaired platelet function aged from birth to the age of 18 that came in the Division of Hematology, Department of Pediatrics, University Hospital Center Zagreb in the period from 1th January 1999 to 31th December 2013. Results showed twice the incidence in girls, among them the most common symptom was profused menstruation.

Keywords: thrombasthenias, children

1. Uvod

Kvalitativni poremećaji funkcije i stvaranja trombocita čine veliku skupinu pojedinačno rijetkih bolesti koje pokrivaju mnoštvo genetskih defekata slične kliničke slike čestih mukokutanih krvarenja. Nasljedne trombocitopatije su relativno rijetki uzroci nastanka hemoragijske dijateze. Mogu imati cijeli spektar različitih manifestacija od petehija i modrica do spontanih krvarenja. Kod žena u fertilnom razdoblju česte su menoragije. Različito je i vrijeme pojave prvih simptoma koji se kod teških oblika mogu javljati već pri rođenju u obliku produljenog krvarenja iz pupčane vrpce ili hemoragija u mozgu. Kefalhematomi odnosno porođajne otekline na glavi te krvarenje u mišić sternokleidomastoideus su rjeđe komplikacije. Blaži oblici prirođenih trombocitopatija manifestiraju se u djetinjstvu učestalim krvarenjima i modricama nakon manjih ozljeda.

1.1. Fiziologija hemostaze

Hemostaza je kompleksan proces stvaranja krvnog ugruška na stjenkama krvnih žila, kojim se postiže zaustavljanje krvarenja. Hemostaza se može podijeliti u tri osnovne faze. U primarnoj hemostazi, oštećenjem stjenke krvne žile dolazi do gotovo trenutačne vazokonstrukcije uslijed kontrakcije glatkih mišićnih stanica, a zatim do aktivacije endotelnih stanica i trombocita da bi se stvorio trombocitni čep. U ovoj fazi endotelne stanice eksprimiraju svoje adhezivne molekule koje su receptori za trombocite i koagulacijske čimbenike. Trombociti dopiru do subendotelnog kolagena gdje se aktiviraju, mijenjajući svoj oblik, oslobađaju i medijatore ispoljavajući adhezivne receptore na svojoj površini. Prvi korak kojim se uopće postiže komunikacija između endotelnih stanica i trombocita jest izlaganje subendotelnih komponenti uključujući kolagen, fibronektin i VWF cirkulirajućim trombocitima na čijim površinama se nalaze glikoproteini (GPIb/IX, GPIa/IIa, GPIIb/IIIa). Trombocitna adhezija na mjestu ozljede krvne žile uglavnom ovisi o tim adhezivnim receptorima na membrani trombocita koji će prepoznati svoje ligande na stijenci krvnih žila i njegovim već spomenutim subendotelnim strukturama. U subendotelnom matriksu značajno mjesto kao ligand ima von Willebrandov faktor (VWF) koji se veže na GPIb. Trombocitna agregacija dovodi do povećanog spajanja trombocita. Nakon vezivanja dolazi do „kotrljanja“ u smjeru krvotoka nakon čega slijedi presudni događaj adhezije, a to je interakcija receptora GPIIb/IIIa s fibrinogenom. U isto vrijeme se trombocitnom sekrecijom iz gustih i alfa granula oslobađaju tvari, uključujući adenzin fosfat (ADP) i tromboksan A₂ (TXA₂), koje dodatno utječu na proces stvaranja trombocitnog čepa kao i na započinjanje druge faze hemostaze. Na površini trombocita dolazi do izlaganja negativnih fosfolipidnih naboja koji su važni za poticanje koagulacijskih faktora. (1)

Druga faza, sekundarna hemostaza, obuhvaća aktivaciju koagulacijskih faktora i formiranje fibrinskog čepa. Sada je već dobro poznat značaj tkivnog faktora (TF) i njegove uloge u stvaranju moćnog kompleksa s faktorom VII (TF-VIIa) koji direktno aktivira faktor X. Na taj način putem tzv. kompleksa protrombinaze aktivirani faktor X (Xa-Va-fosfolipid i kalcij) pretvara protrombin u trombin. TF je *in vivo* triger koagulacijske kaskade. Trombin pretvara fibrinogen u fibrin ograničenom proteolizom, pri čemu se odvajaju fibrinopeptid A i B i stvaraju fibrinski monomeri. (1)

Kada je u pitanju sekundarna hemostaza postoje i mehanizmi koji kontroliraju prekomjernu aktivaciju koagulacijskog sustava i formiranje fibrina. Glavna uloga ovog mehanizma je sprječavanje nekontrolirane generacije trombina, a aktivirani protein C (APC) je najznačajnija zaštita. APC djeluje na dvije razine, vezuje se za trombomodulin koji inaktivira trombin i sprječava prelazak faktora koagulacije VIII i V u svoje aktivne oblike. (1)

Fibrinoliza je bitan mehanizam kojim se ponovo uspostavlja cirkulacija u oštećenim krvnim žilama razlaganjem fibrinskog ugruška. Plazminogen se vezuje za fibrin i pod utjecajem aktivatora tkivnog plazminogena (tPA) se pretvara u plazmin koji razgrađuje fibrin. (1)

1.1.1 Funkcija trombocita u mehanizmu zgrušavanja krvi

Odavno je prepoznata uloga trombocita, ne samo u prvoj fazi hemostaze u činu formiranja ugruška, nego i u stabilizaciji stjenke krvne žile i regulacije njene permeabilnosti. Sve više podataka koji podupiru tezu velike važnosti trombocita za sam integritet krvne žile, u normalnom i u upalnom stanju. Promatrajući istraživanja u svjetlu sve češćih ishemijskih bolesti nastalih trombozom upravo je ta novootkrivena uloga trombocita ključ moderne antitrombotične terapije koja bi omogućila selektivno blokiranje isključivo koagulacijske funkcije trombocita čime bi se uvelike spriječile hemoragijske komplikacije. U osoba koje su zbog zračenja patile od trombocitopenije dokazana je veća učestalost poremećaja mikrovaskularnog endotela.(2)

Iako je jasna povezanost trombocitopenije s edemima nije sasvim jasan mehanizam te korelacije. Vjeruje se da se ne radi o samo jednom načinu djelovanja, nego o više različitih neovisnih mehanizama. Trombociti fizički blokiraju potencijalna oštećenja koja bi rezultirala diskontinuitetom stjenke krvne žile. Trombociti i trombocitni faktori rasta izravno potiču endotelne stanice na rast i diobu, održavaju njihovu mikrostrukturu i otpuštaju topljive čimbenike koji potpomažu krvnu barijeru. Upravo ispad ovih funkcija trombocita može biti uzrok spontanog krvarenja kod trombocitopenija dok se primjerice kod oštećenja veza endotelne stanice uz normalan broj i funkciju trombocita ne javljaju krvarenja. (3)

Uloga trombocita važna je i u razvoju krvnih žila stimulirajući endotelnu proliferaciju i diferencijaciju u kapilarne strukture. U isto vrijeme sprječavaju hemoragiju tih novostvorenih krvnih žila. Aktivacija Src homologa 2 uslijed komunikacije C-tip lecitinu sličnog receptora 2 trombocita i podoplanina je ključan faktor u diferencijaciji limfangiogeneze od hemangiogeneze. (3)

Jasna je i povezanost smanjenog upalnog odgovora kao posljedice trombocitopenije. Uzrok tome leži u trombocitnom poticanju mobilizacije leukocita putem svojih adhezivnih molekula P-selektina, $\beta 3$ integrina, GPVI i GPIb. Tome pridonose i kemokini i "up regulacija" ekspresije adhezijskih molekula na površini endotelne stanice što dovodi do olakšanog prijelaza leukocita kroz stjenku krvnih žila. Tu ponovno dolazi do izražaja zaštitnička uloga trombocita koji neutraliziraju štetna djelovanja leukocita lučeći tkivni inhibitor metaloproteinaze. Upravo taj mehanizam sprječava pojavu spontanog krvarenja u upalnim područjima. (1)(3)

1.1.2. Testovi funkcije trombocita

Postoji niz pretraga evaluacije trombocita koje mogu izravno testirati ili indirektno upućivati na funkciju trombocita. Iako poremećaji funkcije trombocita mogu biti povezani s normalnim, sniženim i povišenim brojem trombocita, uvijek se počinje kompletnom krvnom slikom koja uključuje broj trombocita, leukocita i eritrocita. Pregled krvnog razmaza može biti specifičan za pojedine mijelodisplastične te mijeloproliferativne bolesti. Tako primjerice nalaz izrazito velikih trombocita, koji mogu biti veći i od normalnih eritrocita, upućuje na Bernard-Soulierovu bolest dok se mali trombociti pojavljuju kod Wiscott-Aldrichtova sindroma.

Vrijeme krvarenja je nespecifična metoda koja pokazuje na poremećaj prve faze zgrušavanja. Može se raditi o poremećaju funkcije ili broja trombocita, anemiji, leukopeniji te o nedostatku von Willebrantova faktora, faktora V ili fibrinogena. Mjerenje vremena krvarenja je korisno u praćenju napretka liječenja. Zbog svoje jednostavne upotrebe za koju je dovoljna vrlo mala količina kapilarne krvi i vrlo brzih rezultata, test je i danas uvelike korišten osobito u pedijatriji gdje su poremećaji primarne hemostaze puno češći od koagulopatija. Važno je naglasiti da analiza rezultata nije moguća bez iscrpne anamneze krvarenja i potpunog pregleda pacijenta.(4)
(5)

Najpreciznije metode su one koje izravno mjere funkciju trombocita. PFA-100 (Platelet Function Analyzer, Analizator funkcije trombocita) je pretraga koja mjeri njihovu aktivaciju ADPom i epinefrinom. (4)

U diferencijalnoj dijagnostici različitih tipova trombocitopatija najznačajniji su testovi agregacije trombocita s ADPom, adrenalinom, ristocitinom, kolagenom i arahidonskom kiselinom. (4)

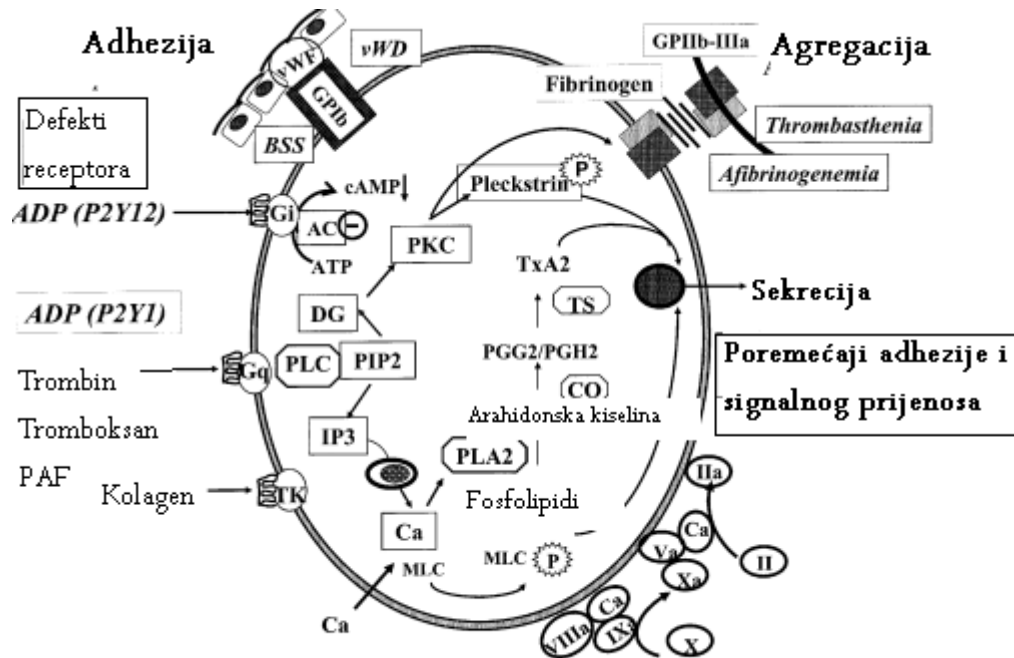
1.2. Anamnestički podaci djeteta sklonog krvarenju

Petehije su najčešći simptom trombocitopatija, ali se mogu pojaviti i u sklopu kliničke slike vaskulitisa, bakterijemije ili diseminirajuće intravaskularne koagulacije. Osim produljenog krvarenja nakon manjih ozljeda i nastanak nesrazmjerno velikih modrica, uz određene bolesti se javljaju i nehematološki simptomi. Kod poremećaja MYH9 gena za nemišićni miozin, makrotrombocitopenija je povezana s promjenama bubrega, oka ili uha, dok drugi nasljedni oblici trombocitopenija mogu biti povezani sa sklonošću leukemijama, oštećenjem koštanog tkiva, poremećajima učenja te abnormalnom crvenom krvnom lozom. Hermansky-Pudlak sindrom može biti praćen i kolitisom i fibrozom pluća, a Chediak-Higashi čestim infekcijama i fatalnom limfoproliferativnom bolešću već u ranom djetinstvu. Obilježje obaju sindroma je albinizam kože, kose i očiju. Wiscott-Aldrichov sindrom je praćen ekcemima kože. U djevojčica izrazito čest symptom je produljeno i obilno menstruacijsko krvarenje koje nerijetko bude i jedini znak bolesti.(1)(4)

Kao što se vidi iz nabrojanih simptoma svaka sumnja na trombocitopatiju bi trebala biti praćena iscrpnom obiteljskom i osobnom anamnezom te temeljitim kliničkim pregledom.

1.3. Uzroci nastanka poremećaja kod nasljednih poremećaja funkcije trombocita

Prirodne trombocitopatije različito se nasljeđuju. Neke trombocitopatije, kao Wiscott-Aldrichov sindrom se nasljeđuju X-vezano, druge se prenose autosomno recesivno kao primjerice Glanzmannova trombastenija, dok se neke prenose i autosomno dominantno. Uzrok trombocitopatije može biti u poremećaju bilo kojeg dijela složenog sustava stvaranja trombocitnog čepa. Proučavanjem Glanzmannove trombastenije došlo se do mnoštva novih spoznaja o patofiziologiji integrina kao i funkciji GP IIb/IIIa. Bernard-Soulierov sindrom primjer je makrotrombocitopenije koji objedinjuje proizvodnju velikih trombocita s deficitom ili nefunkcionalnim glavnim receptorom trombocita, GPIB-IX-V kompleks. Zamjena jedne aminokiseline za GPIIb, može dovesti do up-regulacije i spontanog vezanja von Willebrandova faktora što dovodi do von Willebrandove bolesti. Poremećaji aktivacije i degranulacije trombocita dovode do akumulacije abnormalnih formacija granula kao u sindroma sivih trombocita (s mijelofibrozmom koštane srži). (4,6,7)



Slika 1.3. Shematski prikaz normalnih odgovora trombocita i kongenitalni poremećaji funkcije trombocita.

AC, adenil ciklaza; CO, ciklooksigenaza; DG, diacilglicerol; IP₃, inozitoltrisfosfat; MLC, miozinski laki lanac; MLCK, miozinski laki lanac kinaza; PAF, trombocitni aktivacijski factor ; PIP₂, fosfatidilinozitol bisfosfat; PKC, protein kinaza C; PLC, fosfolipaza C; PLA₂, fosfolipaza A₂; TS, tromboksan sintetaza; TK, tirozin kinaza; vWF, von Willebrand faktor; vWD, von Willebrandova bolest.

Izvor (prema): Rao AK, Jalagadugula G, Sun L. Inherited defects in platelet signaling mechanisms. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30: 525–35.

1.3.1. Poremećaj adhezije

Primjeri:

- Sy. Bernard-Soulier
- Von Willebrandtova bolest

Bernard–Soulierov sindrom (BSS) je autosomno recesivna bolest s incidencijom 1:1.000.000 obilježena trombocitopenijom s velikim trombocitima i poremećajima adhezije zbog genetskih defekata GPIb-IX-V kompleksa. Pošto je GPIb odgovoran za vezivanje VWF i trombina, poremećene su adhezija i agregacija. U BSS trombocitopenija nastaje jer je GPIb receptor i za sijaličnu kiselinu zbog čijeg nedostatka trombociti imaju skraćen životni vijek. GPIb-IX-V kompleks je produkt četiri različita gena. GPIb α i GPIb β nalaze se na kromosomima 17 i 22 dok se geni GPIX i GPV nalaze na trećem kromosomu. U BSS najčešća je mutacija GPIb α gena. Bolest se dokazuje nalazom poremećene agregacije trombocita s ristocetinom, a uredne s adrenalinom, ADP, arahidonskom kiselinom i kolagenom. Protočnom citometrijom monoklonskim protutijelima specifičnim za trombocite: GPIb (CD42), GPIX (CD42a) i GPV (CD 42d), dokazujemo nedostatak navedenih receptora na površini trombocita. Posebna podvrsta BSSa je **trombocitni tip von Willebrandove bolesti** kod kojeg dolazi do spontanog vezivanja plazmatskog vWF na uvećane trombocite. (4)(6)(7)

Klinička slika BSSa je vrlo varijabilna i nepredvidiva. Iako simptomi mogu biti vrlo blagi većina oboljelih zahtjeva barem jednom u životu transfuziju trombocita. Najteži oblik je fatalna hemoragija koja je vrlo rijetka.

1.3.2. Poremećaj agonista receptora

U procesu agregacije ključnu ulogu imaju receptori na površini trombocita od kojih je najvažniji već spomenuti glikoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIa) iz obitelji integrina kojim se vežu za fibronektin, trombospondin i vWF. Za vezivanje za ADP važni su P2 receptori od kojih je klinički

najznačajniji P2Y jer njegov nedostatak dovodi do umjerenog mukokutanog krvarenja i produljenog postoperativnog krvarenja.

Primjeri:

- Integrin alfa2 beta1 (receptor za kolagen)
- GpVI (receptor za kolagen)
- P2Y 12 (receptor za ADP)
- Thromboxan A 2

1.3.3. Poremećaj prijenosa signala

Različiti parovi receptora i njihovih specifičnih liganada konvergiraju u zajedničke signalne događaje koji stimuliraju trombocite na promijenu oblika, izlučivanje granula i na kraju mogu inducirati "iznutra prema van" postupak koji dovodi do aktiviranja signalizacije putem integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$. Ligand integrina $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ posreduje adheziju krvnih pločica i agregaciju i aktivira "izvana prema unutra" signal, što rezultira širenjem trombocita, izlučivanje dodatnih granula, stabilizaciju adhezije i agregacije trombocita te povlačenje ugruška. Tako je postalo sve očitije da agonistički inducirana aktivacija trombocita preslušavanjem integrinskog signala, regulira odgovor trombocita. Aktivacija trombocita uključuje niz brzih pozitivnih povratnih petlji koje uvelike pojačavaju početnu aktivaciju signala i omogućuju brzu akumulaciju trombocita i stabilizaciju tromba. (8)

Protein kinaze C su uključene u različite funkcionalne odgovore trombocita koji su kritični u hemostazi i trombozi. Članovi protein kinaze C (PKC) pozitivno i negativno reguliraju aktivaciju trombocita. Iako su opsežno proučavane pozitivne regulatorne uloge, negativne regulatorne uloge PKCS slabo se razumiju. Nedavna istraživanja pokazuju kako je ta negativna povezanost indirektna, putem blokade otpuštanja intrastaničnog kalcija posredovana ADP odgovorom. (9)

Primjeri:

- Nedostatak fosfolipaze C beta2
- Nedostatak ciklooksigenaze
- Nedostatak tromboxan sintetaze
- Nedostatak lipooksigenaze
- Poremećaj mobilizacije kalcija

1.3.4. Poremećaj sekrecije

Trombociti obiluju granulama koje sadrže tvari potrebne za funkciju trombocita u hemostazi, trombozi, upali i angiogenezi. Trombocitne granule uključuju α -granule, guste granule i lizosome. Od ovih vrsta α -granula je daleko najzastupljeniji s 50-80 granula po trombocitu, u usporedbi s 3-6 gustih granula po trombocitu i 0-3 lizosomi po trombocitu. Nedavna istraživanja pokazuju da α -granule možda ne predstavljaju homogenu populaciju te da se njihove subpopulacije mogu razlikovati na temelju morfologije, sadržaja i odgovora na agoniste. (10)

Primjeri:

- Sy Hermansky-Pudlak
- Sy Chediak-Higashi
- Sindrom sivih trombocita
- Sy Quebec
- Sy Wiscott-Aldrich

Najvažniji čimbenici alfa granula su VWF, thrombospondin i fibrinogen, a gustih granula adenozin difosfat (ADP) i serotonin. Deficit gustih granula dovodi dakle do manjka ADPa, a najpoznatiji primjeri su **Hermansky-Pudlak i Chediak-Higashi sindromi** koji su autosomno recesivne bolesti kod kojih uz poremećaje agregacije postoji i albinizam kože, kose i očiju.

Hermansky-Pudlak sindrom može biti praćen i kolitisom i fibrozom pluća, a Chediak-Higashi čestim infekcijama i fatalnom limfoproliferativnom bolešću već u ranom djetinstvu. (4)(6)(7)

Abnormalnost alfa granula se još naziva i **sindrom sivih trombocita**. To je autosomno recesivna bolest vrlo varijabilnih simptoma, najčešće u obliku mukokutanih krvarenja. **Quebec sindrom** je autosomno dominantna bolest praznih alfa granula kod koje je poremećaj agregacije trombocita najviše izražen uz epinefrin. Zbog nemogućnosti otpuštanja alfa granula dolazi do intracelularne aktivacije fibrinolitičke kaskade te je antifibrinolitička terapija do sada dala najbolje rezultate u kontroli krvarenja. (4)(6)(7)

Wiscott-Aldrichov sindrom je X-vezana recesivna bolest koja zahvaća T limfocite i trombocite. Mikrotrombocitopenija se javlja uz ekceme i rekurentne infekcije. Blaži oblik bolesti u kojem su zahvaćeni samo trombociti se jednostavno naziva X-vezana trombocitopenija. Skraćen je životni vijek trombocita najvjerojatnije zbog povećanog uništavanja u slezeni. Konačno izlječenje se postiže jedino transplantacijom koštane srži. (4)(6)(7)

1.3.5. Poremećaj agregacije

Kao što je već navedeno, aktivacija trombocita u konačnici dovodi do njihove agregacije bez koje nema stvaranja ugruška i zaustavljanja krvarenja. Jasno je da poremećaj u tom koraku dovodi do produljenog i neprimjerenog krvarenja,

Primjeri:

- Glanzmann trombastenija
- Kongenitalna afibrinogenemija

Glanzmannova trombastenija (GT) je najčešći nasljedni poremećaj trombocita kod kojeg izostaje normalna agregacija potaknuta vezivanjem fizioloških agonista poput fibrinogena i VWFa na $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ integrin (GPIIb-IIIa kompleks). Broj i veličina trombocita su normalni. Bolest se nasljeđuje autosomno recesivno, a do sada je pronađeno preko 70 različitih mutacija. U normalnih pojedinaca aktiviran GPIIb/IIIa veže se na fibrinogen i VWF te se stvara trombocitni agregat (24). U GT trombociti su u stanju komunicirati s kolagena u subendotelu, ali te

trombocitne interakcije su neispravne i proizvodnja tromba je nepravilna. Više mutacija može utjecati na GPIIb/IIIa složeni sklop na trombocitnoj membrani. Različite mutacije zabilježene su u bilo α Ib (ITGA2B) ili β 3 (ITGB3) genima (24) . Nositelji koji nose 50% mutiranih GPIIb/IIIa molekula su bez simptoma, ali oni s tipom 2 GT koji imaju manje od 10 do 20 % GPIIb/IIIa mogu biti ozbiljno pogođeni. Tip 1 GT obično ima < 5 % GPIIb/IIIa i oni imaju odsutno ili ozbiljno manjkavo fibrinogeno vezivanje i stvaranje ugruška. Trombociti u GT Tip 3 imaju različitu sposobnost za stvaranje fibrinskog ugruška jer je sadržaj GPIIb/IIIa približno uredan, no njihovo je vezivanje poremećeno (25).

Postoji varijabilnost u manifestacijama krvarenja u GT, dokazana je povezanost između razine GPIIb/IIIa i težine hemoragijske bolesti. Iako je većina simptoma prisutna već u ranom djetinjstvu i oboljeli trpe česte epizode krvarenja kroz prvo desetljeće života, neki pacijenti rijetko krvare i rijetko je potrebna intervencija. U onih koji imaju težak fenotip od samog početka težina simptoma se može smanjiti s dobi. Tipični simptomi su slični onima u BSS i obuhvaćaju različite vrste mukokutanih krvarenja. Gingivalno krvarenje je konstantan nalaz, a menoragija pogotovo menarhe može biti osobito teška. Općenito simptomi krvarenja u teškim poremećajima funkcije trombocita su teži kod žena, a to se odnosi uglavnom na prekomjerni menstrualni gubitak krvi. Krvarenja nakon traume i kirurških postupaka mogu biti teške (26).

Za dijagnostiku je važan nedostak ili oštećenje agregacije trombocitnog odgovora na sve agoniste osim s ristocetinom. Dijagnoza se može potvrditi pomoću protočne citometrije određivanjem količine GPIIb - IIIa na membrani trombocita pomoću specifičnih antitijela koji se vežu na gpIIIa (CD61) ili GPIIb (CD 41) .

1.3.6. Poremećaj interakcije trombocita i faktora koagulacije

Primjer:

- Sy Scott

Scottov sindrom je rijetka nasljedna kongenitalna bolest krvarenja koja se manifestira malformacijama lica, šake i često mentalnom retardacijom. U normalnom stanju aktivacijom

trombocita, fosfatidilserin (PS) se s unutarnje strane transportira na vanjsku površinu membrane trombocita, gdje osigurava vezno mjesto za plazmatske faktore zgrušavanja i njihove komplekse, kao što su faktor VIIIa-IXa i faktor X. u Scottovu sindromu, mehanizam za premještanje PS na trombocitnoj membrani je neispravan, što rezultira formiranjem oslabljenog trombina. (11)

1.4. Jatrogeno izazvani poremećaji funkcije trombocita

Funkcija trombocita je vrlo podložna promjenama pri primjeni mnogih lijekova koji se svakodnevno upotrebljavaju, poput acetilsalicilne kiseline, nesteroidnih antireumatika, antagonista ADP receptora (klopidogrel), GpIIb/IIIa antagonista (tirofiban), antibiotika (beta laktamski, nitrofurantoin, mikonazol, hidroksiklorokin), lijekova za kardiovaskularne bolesti (propranolol, nitroprusid, nitroglicerol, furosemid, blokatori kalcijevih kanala), etanola, dodataka hrani (omega 3 masne kiseline, vitamin E, luk, kumin, ginko) i drugih. (12)

Učinak acetilsalicilne kiseline je do sada najbolje proučen od svih lijekova koji djeluju na funkciju trombocita zbog njegove uloge u prevenciji trombotskih kardiovaskularnih bolesti. Djeluje ireverzibilnom inhibicijom ciklooksigenaze (COX) čime blokira prvi korak sinteze prostaglandina, uključujući tromboksan A₂ koji potiče agregaciju trombocita i vazokonstrikciju. Važno je napomenuti i da je djelovanje aspirina ovisno o dozi jer su već manje koncentracije lijeka dostatne za blokadu COX-1 receptora koji su povezani s antitrombotičnim djelovanjem dok su za protuupalno djelovanje preko COX-2 receptora potrebne puno veće doze. Efektivne antitrombotičke doze se kreću u rasponu od 50 do 1500 mg po danu i ta funkcija je postignuta već pri donjim granicama sa smanjenim neželjenim učincima. Upotreba aspirina s klopidogrelom ili varfarinom dokazano dovodi do povećane učestalosti krvarenja, a ukidanje istih dovodi do učestalosti tromboza (stent tromboze, embolije...).(12)

Ostali nesteroidni antireumatici reverzibilno inhibiraju COX-1 slabije od aspirina čime se objašnjava manja učinkovitost u sprječavanju trombotskih fenomena. Dok selektivni COX-2 inhibitori ne koleriraju s trombotičnom aktivnošću.

Upotreba Dipiridamola je danas ograničena zbog nepotpuno poznatog mehanizma djelovanja i zbog manje učinkovitosti, dok je upotreba Klopidogrela kao i Tiklopidina u kardiovaskularnih bolesnika danas nezamjenjiva. Djeluju kao ADP antagonisti regulirajući adenil ciklaznu aktivnost. (12)

Osim medikamentozne terapije i kardiopulmonalna ekstrakorporalna cirkulacija (CPB) iz više razloga može dovesti do trombocitopatija čemu pridonose nefiziološka površina stroja, hipotermija, aktivacija komplementa, otpuštanje citokina i generacija trombina. Glikoproteini Ib i IIb/IIIa i PECAM-1 su sniženi što dovodi do smanjene trombotične agregacije i time do

smanjene adhezivnosti. Aktivirani trombociti luče proteine iz alfa granula, uključno i protein P-selektin, čime se potiče formacija trombocit-neutrofil i trombocit-monocit agregata. Ti kompleksi vjerojatno imaju važnu ulogu u post CPB upalnom odgovoru. Trombocitopenija je također česta pojava zbog hemodilucije i adherencije trombocita na stranu površinu. (12)

1.5. Trombocitopatije povezane s drugim poremećajima

Nasljedne trombocitopatije su rjeđe od stečenih. Jetra ima važnu ulogu u procesima hemostaze. Kvantitativni i kvalitativni trombocitni poremećaji mogu biti posljedica kronične i akutne bolesti jetre. Trombocitopenija može biti prva manifestacija akutnog hepatitisa. Isto tako i disfunkcionalni trombociti bez promjene broja mogu dovesti do povećanog rizika krvarenja kod poremećaja jetre. Kod ciroze jetre zbog manjka trombopoetina i povećane razgradnje trombocita dolazi do trombocitopenije koja dovodi do kompenzatornog povećanja vWF i trošenja ADAMTS 13 što može dovesti do cerebrovaskularnih mikrotromboza. (27) Kod ciroze jetre promijenjeni su brojni laboratorijski nalazi. Tako primjerice vrijednosti D-dimera koji su u cirozi uglavnom povišeni govore više o statusu jetre (znači da ima fibrinogena), a puno manje o mogućoj trombozi. Vrijednosti APTV i PV također nisu dobri parametri u procjeni kolagulacijske funkcije jetre te je bolji test generacije trombina i tromboelastinometrija (28, 29).

Uremija uslijed kroničnog bubrežnog zatajenja je dugo vremena povezivana s produljenim vremenom krvarenja. Ekhimoze, epistakse, gastrointestinalna i genitouritralna krvarenja su česte pojave koje pokazuju posljedičnu sliku trombocitne disfunkcije. Veći dio tih poremećaja se može pripisati primjeni heparina s dijalizom, koagulopatijama ili anatomskim abnormalnostima, a ne samoj uremiji. Težina bubrežnog zatajenja ne korelira s abnormalnom agregacijom trombocita dok anemija i produljeno vrijeme krvarenja izravno koreliraju. Zanimljivo je da se popravkom anemije popravlja i učestalost krvarenja.

1.6. Terapija krvarenja kod djece s poremećajem funkcije trombocita

Kao što je već navedeno laboratorijski testovi nisu jasan pokazatelj točnog oštećenja u okviru krvarenja. Budući da je ukupno gledajući najčešći uzrok krvarenja primjena aspirina (ili drugih lijekova s antitrombocitnim djelovanjem), nužno je kao prvu mjeru ukinuti primjenu istih, osobito prije operacijskog zahvata. Specifični testovi funkcije trombocita očigledno nemaju presudnu važnost u kliničkom prosuđivanju, ipak svaka sumnja na krvarenje uzrokovano poremećajem bilo broja bilo funkcije trombocita treba biti potkrijepljena odgovarajućim specifičnim testovima da bi se čim racionalnije odredila terapija. Terapijski izbor u liječenju poremećaja trombocita je relativno oskudan, posebno nasljednih poremećaja.(13)

Dezmopresin (dDAVP), sintetski oblik vazopresina, danas je najčešće upotrebljavani faktor u kontroli hemostaze posebno kod poremećaja von Willebrandove bolesti (vWB) djelujući izravno na otpuštanje endogenog von Willebrandova faktora (vWF) iz stjenke krvne žile. Primjena dezmopresina je posebno učinkovita kao preventivna mjera kod manjih operacijskih zahvata u osoba s blažim poremećajima trombocita. Pokazano je i djelovanje na skraćenje VK pri primjeni dDAVP kod stečenih trombocitopatija, no nije dokazana povezanost sa smanjenim rizikom od krvarenja. Učinkovit je i kod većine nasljednih trombocitopatija osim kod sindroma Scott, Glanzmannove trombastenije te vrlo teških slučajeva sindroma Bernard-Soulier. dDAVP se može primijeniti intravenski i intaranazalno. Doze koje su učinkovite kod trombocitopenija značajno su više nego one koje se daju kod dijabetesa insipidusa te postoji mogućnost zadržavanja vode u organizmu s posljedičnom hipervolemijom i dilucijskom hiponatremijom pa svaka primjena ovog lijeka treba biti strogo kontrolirana. Kod težih nasljednih trombocitopatija, primjerice Glanzmannove trombastenije i BSS često su potrebne i transfuzije trombocita u prevenciji spontanog krvarenja. Kod slabije izraženih krvarenja transfuzija trombocita bi se trebala koristiti u iznimnim slučajevima zbog bojazni od aloimunizacije na HLA ili na trombocitne glikoproteine. Kontroliranje spontanog krvarenja u nasljednim trombocitopatijama prvenstveno leži u prevenciji. Preventivne mjere uključuju izbjegavanje određenih lijekova i hrane, primjerice nesteroidnih antireumatika, zatim sanacija zubala čime se smanjuje vjerojatnost težih zahvata kao i regulacija razine željeza. Najučinkovitija preventivna mjera u regulaciji produženog menstrualnog krvarenja je upotreba oralnih kontraceptiva s kombinacijom estrogena i progesterona. (1)

Kod osoba koje ne mogu primiti transfuziju trombocita zbog stvorenih aloimunih protutijela razmatra se primjena rekombinantnog čimbenika zgrušavanja VII. Rekombinantni čimbenik zgrušavanja (rFVIIa) također je vrlo učinkovit lijek kod trombocitopatija. Daje se u pojedinačnoj dozi od 80-90 mikrog/kg, svaka 2,5-3 sata, najmanje tri puta dnevno. Učinkovitost ovog lijeka je klinički zadovoljavajuća u oko 80% bolesnika stvarajući lokalni prokoagulativni efekt na oštećenim krvnim žilama stvarajući trombinski čep neovisno o djelovanju faktora zgrušavanja. (1)(13)

Antifibrinolitici (traneksamična kiselina i ϵ -aminokapronska kiselina) se uspješno koriste kod menoragija, epistaksa i produljenih krvarenja nakon ekstrakcije zuba. Češće se daje traneksamična kiselina i to peroralno svakih 8 sati. Fibrinolitici su posebno učinkoviti kod sindroma Quebec. (13)

Posljednja linija obrane je transplantacija matičnih hematopoetskih stanica koja sama po sebi nosi dosta rizika te se za nju odlučuje tek onda kada su iscrpljene sve druge mogućnosti, a nije postignuta zadovoljavajuća kontrola krvarenja. Transplantacijom se uglavnom liječe oboljeli od Wiscott-Aldrichova sindroma i sindroma Chediak-Higashi sa srodnim podudarnim davateljem. Od trombocitopatija dolaze u obzir i vrlo teški oblici Glanzmanove trombastenije i sindroma Bernard-Soulier, koji se ne uspijevaju uspješno liječiti prije navedenim postupcima. (13)

2. Cilj rada

Cilj rada bilo je ustanoviti intenzitet i učestalost krvarenja kod djece s poremećenom funkcijom trombocita, a kod kojih je isključena von Willebrantova bolest i trombocitopenija.

3. Ispitanici i metode

U ovom radu retrospektivnom analizom obuhvaćena su djeca u dobi od rođenja do navršenih 18 godina života kojima je dokazan poremećaj funkcije trombocita, a koji su obrađivani u Zavodu za hematologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u vremenskom razdoblju od 1. siječnja 1999. godine do 31. prosinca 2013. godine. Ispitivana skupina djece se sastojala od 29 bolesnika u dobi od 8 mjeseci do 18 godina kojima je postavljena dijagnoza nasljedne trombocitopatije.

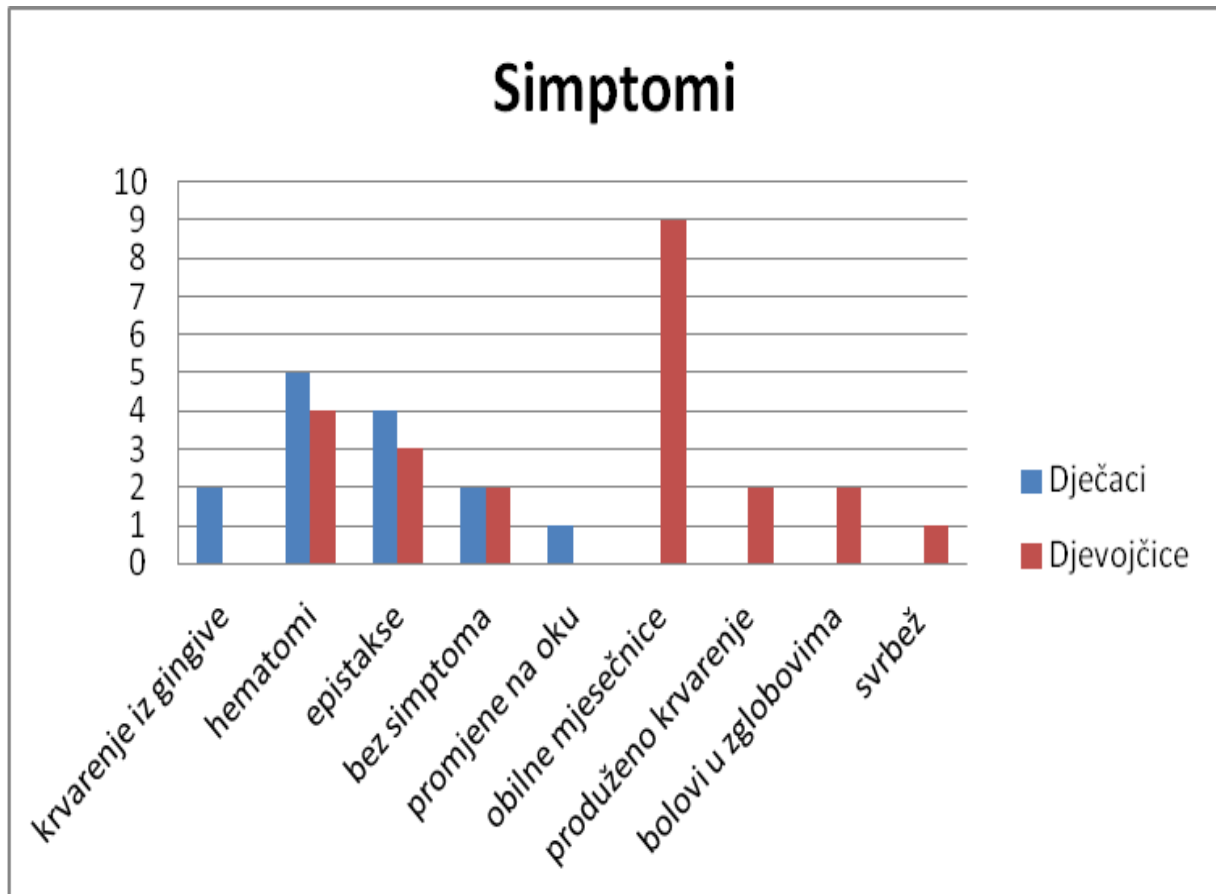
Kriterij za postavljanje dijagnoze nasljedne trombocitopatije bio je poremećaj zgrušavanja trombocita s adrenalinom, ADPom, ristocitinom, kolagenom i/ili arahidonskom kiselinom, te isključenje postojanja von Willebrandove bolesti, te bolesti jetre, bubrega ili drugih organskih sustava, koji bi mogli dovesti do poremećaja funkcije trombocita.

4. Rezultati

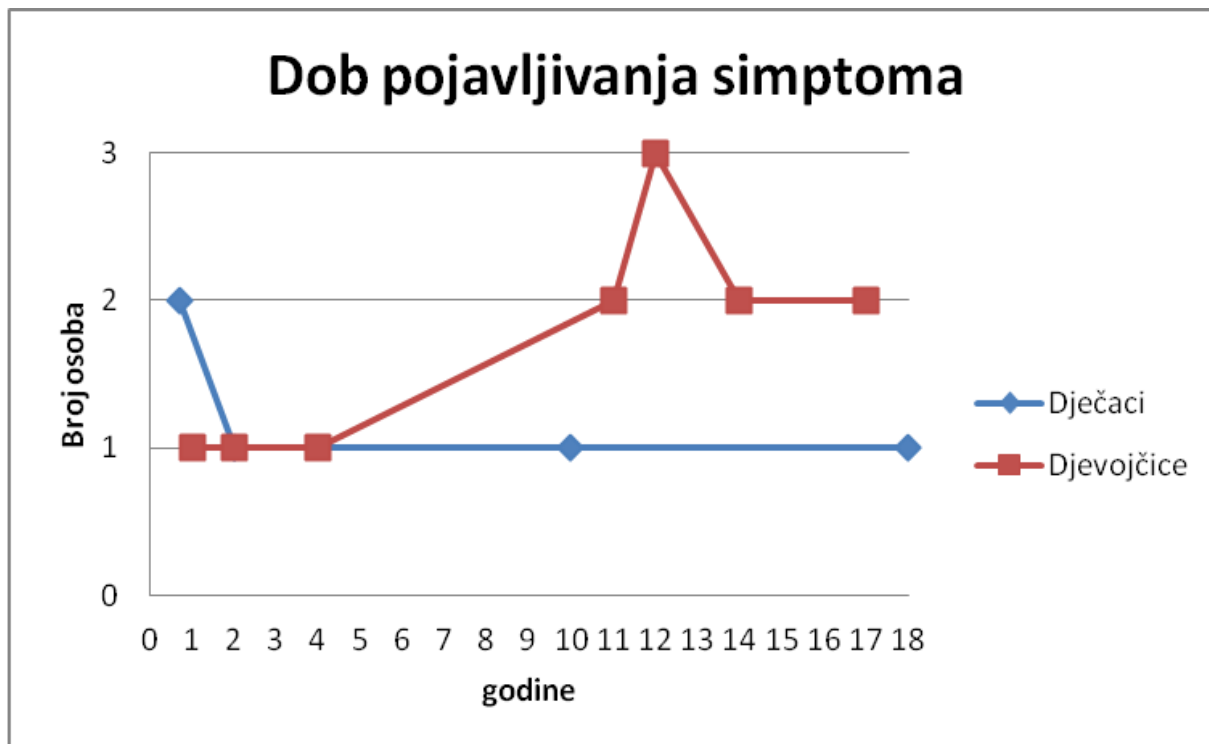
U rad je uključeno 29 ispitanika dobi od 8 mjeseci do 18 godina od kojih je 11 (38%) bilo muškog, a 18 (62%) ženskog spola (slika 4.1.). Kod dječaka je najčešći simptom bila pojava hematoma, a kod djevojčica produžena menstruacija u čak 50% slučajeva (slika 4.2.). Upravo je u dobi pojavljivanja menarhe najveća incidencija otkrivanja bolesti (slika 4.3.). Od 14 djevojčica koje su imale menarhu 9 (64%) ih ima obilne mjesečnice, a u 8 je to jedini simptom bolesti.



Slika 4.1. Spolna raspodjela ispitanika

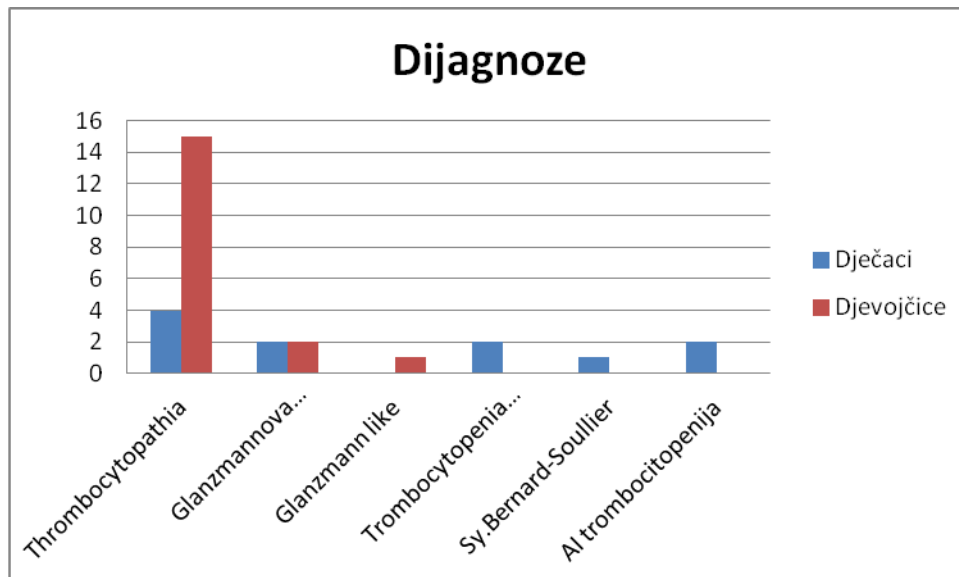


Slika 4.2. Učestalost simptoma



Slika 4.3. Dob pojavljivanja simptoma

Od 29 slučajeva bilo je 4 Glanzmannove trombastenije, jedna Glanzmann like, jedan Bernard-Sullier i dvije trombocitopenija tipa MYH 9 (slika 4.4.). Najčešća prateća bolest bila je anemija koja se pojavljuje u 74 % ispitanika (slika 4.5., tablica 4.1.), a obiteljska anamneza je bila pozitivna u manje od polovice slučajeva, točnije u 44% (slika 4.6.).

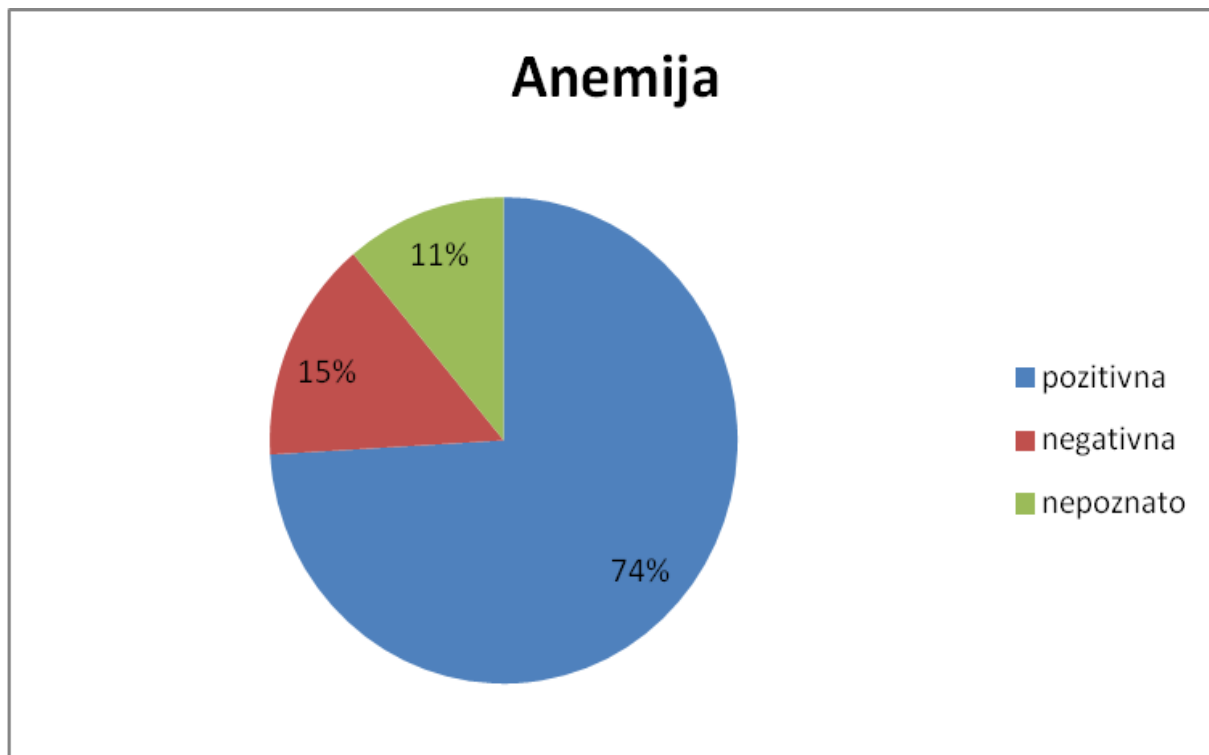


Slika 4.4. Dijagnoze

Tablica 4.1. Prikaz spoli, dobi i dijagnoze ispitanika te njihovih simptoma

<i>Spol</i>	<i>Dob prvih simptoma (god)</i>	<i>Dg</i>	<i>Pridružene bolesti</i>
1 M		TG	anemija
2 M		MYH9	slabiji sluh na D uho, promjene na oku, hidronefroza
3 M		TG	anemija
4 M	8mj	Tp	anemija
5 M	10	Tp AI	/
6 M		Tp	bronhalna astma, atipične konvulzije, anemija
7 M	18	Tp AI	
8 M		Tp	sinkopa
9 M	8mj	Sy BS	anemija
10 M	2	Tp	
11 M	16	MYH9	hypoacusic perceptiva l.sin, anemija
12 Ž	14	Tp	Hashimoto tireoiditis, anemija
13 Ž	19	TG-Like	
14 Ž	14	Tp	anemija
15 Ž		Tp	hiperandrogenizam, anemija
16 Ž	17	Tp	anemija

17	Ž		8	Tp	epilepsija, MR, anemija
18	Ž		12	Tp	bronhalna astma, anemija
19	Ž		2	TG	anemija
20	Ž	8mj		TG	anemija
21	Ž		12	Tp	anemija
22	Ž		17	Tp	anemija
23	Ž		12	Tp	bronhalna astma, anemija
24	Ž		11	Tp	anemija
25	Ž		4	Tp	talasemija
26	Ž			Tp	vaskulitis (bedra)
27	Ž			Tp	anemija
28	Ž			Tp	
29	Ž		11	Tp	glavobolje



Slika 4.5. Učestalost anemije, kao najčešće pridružene bolesti ispitanika



Slika 4.6. Učestalost pozitivne obiteljske anamneze

Kao glavni dijagnostički kriterij uzet je poremećaj agregacije trombocita s adrenalinom, ADPom, arahidonskom kiselinom, kolagenom i ristocitinom. U svim slučajevima je poremećena agregacija trombocita s barem jednom od navedenih tvari (tablica 4.2.).

Tablica 4.2. Prikaz agregacije trombocita s agonistima - adrenalin, ADP, arahidonska kiselina, kolagen i ristocin

TROMBOCITI AGREGACIJA TROMBOCITA							
	Spol	TR (x10 ⁹)	adrenalin	ADP	ARAH	kolagen	ristocin
1	M	305	14%	10%	18%	17%	80%
2	M	100	14%	11%	4%	/	74%
3	M	346	17%	20%	28%	15%	15%
4	M	300	78%	90%	88%	7%	/
5	M	100	60%	35%	65%	73%	62%
6	M	137	15%	72%	65%	78%	73%
7	M	70	20%	16%	10%	11%	57%
8	M	255	54%		16%	32%	58%
9	M	27	63%	53%	8%	/	8%
10	M	251	18%	45%	72%	16%	73%
11	M	128					
12	Ž	227	36%	44%	79%	82%	76%
13	Ž	/	15%	42%	10%	44%	64%

Spol	TR (x10 ⁹)	adrenalin	ADP	ARAH	kolagen	ristocin
14 Ž	237	68%	37%	66%	72%	68%
15 Ž	183	22%	19%	88%	75%	84%
16 Ž	172	32%	19%	59%	25%	68%
17 Ž	144	66%	60%	92%	68%	12%
18 Ž	194	38%	39%	34%	/	/
19 Ž	317	46%	31%	88%	14%	88%
20 Ž	282	6%	6%	14%	8%	62%
21 Ž	201	39%	28%	40%	24%	/
22 Ž	291	82%	18%	74%	74%	86%
23 Ž	298	68%	30%	80%	91%	86%
24 Ž	334	64%	41%	68%	70%	75%
25 Ž	215	49%	40%	54%	16%	57%
26 Ž	297	20%	/	/	/	/
27 Ž	314	63%	32%	64%	59%	60%
28 Ž	307	68%	38%	73%	46%	/
29 Ž	400	92%	47%	76%	19%	?

5. Rasprava

Dosadašnja istraživanja pokazuju da je učestalost dijagnoze nasljednih trombocitopatija relativno mala i da se radi o skupini pojedinačno izuzetno rijetkih bolesti. Trombociti su neophodni za primarnu hemostazu te poremećaji funkcije trombocita obuhvaćaju veliku i po simptomima heterogenu skupinu poremećaja krvarenja koji se po težini kreću od blage do teške bolesti. Iako bolest može biti asimptomatska većinom se na bolest posumnja zbog učestale pojave modrica i mukokutanih krvarenja te produženog postoperativnog krvarenja (1,6,7). Našim istraživanjem pokazali smo da je najčešći simptom bila pojava hematoma, u trećine ispitanika, dok je bez simptoma bilo svega 4 od 29 ispitanika.

Unatoč boljem razumjevanju etiologije poremećene funkcije trombocita, nema većih pomaka u terapijskim postupcima. Suportivna terapija poput antifibrinolitika, DDAVP i trombocitne transfuzije ostaju glavno uporište za liječenje iako djeluju simptomatski, a ne uzročno. (13) U većini slučajeva se radi o bolesti s blago izraženim simptomima, međutim postoje teži oblici bolesti koji su često udruženi s drugim poremećajima organskih sustava u organizmu.

Našim istraživanjem smo obuhvatili ukupno 29 slučajeva s poremećajem funkcije trombocita. Prevalencija prirodnih poremećaja trombocita u općoj populaciji nije utvrđena. Pojedinačne studije pokazuju na to da su prirodni poremećaji trombocita kao i nedostatak vWf, prilično čest uzrok abnormalnih krvarenja. (20, 21) Procjenjuje se da je u nekim zemljama u razvoju identificirano svega oko 5% oboljelih slučajeva i u mnogim zemljama ne postoji nacionalni registar poremećaja hemostaze. (19) U relativnoj učestalosti, nasljedni poremećaji trombocita koji mijenjaju signalizaciju i izlučivanje češći su od poremećaja s nedostatkom gustih granula ili nedovoljne proizvodnje tromboksana (22). Među našim ispitanicima dijagnosticirane su 4 Glanzmannove trombastenije, jedna Glanzmann like, jedan Bernard-Sullier i dvije trombocitopenija tipa MYH 9.

Prirodni poremećaji trombocita češće se dijagnosticiraju kod žena, vjerojatno zbog pojačanog krvarenja prilikom menstruacije i poroda, pa to potakne sumnju na poremećaj hemostaze (14,15,23). Rezultati ovog rada potvrđuju češću dijagnozu bolesti u djevojčica u odnosu na dječake u omjeru 2:1. Razlog takvog omjer mogli bi biti jače izraženi simptomi

u djevojčica u vidu produženog krvarenja pa je vjerojatnost dijagnoze veća. Čak 2/3 pacijentica adolescentske dobi ima obilne mjesečnice, a kod 8 od 9 oboljelih djevojčica je to jedini simptom.

Obiteljska anamneza je vrlo važna u identificiranju osoba koje mogu biti u opasnosti od nasljeđivanja poremećaja krvarenja. Ali je u našem istraživanju svega 34% ispitanika imalo pozitivnu obiteljsku anamnezu.

6. Zaključci

Uspoređujući dostupne podatke iz literature (13,14,15) i rezultate koje smo dobili može se zaključiti da je učestalost nasljednih trombocitopatija u Hrvatskoj veća nego što se dijagnosticira zbog velikog broja oboljelih sa slabo izraženim simptomima.

Incidencija bolesti kod dječaka i djevojčica je vjerojatno približno jednaka, ali se bolest češće dijagnosticira u djevojčica zbog izraženih obilnih mjesečnica.

Uz neke bolesti se javljaju i nehematološki simptomi te je važno kod oboljelih obratiti pažnju i na manifestacije bolesti na drugim organima. Tako je primjerice kod poremećaja s nedostatkom MYH9 gena, makrotrombocitopenija povezana s promjenama oka i uha, a Hermansky-Pudlakov sindrom se javlja istodobno s albinizmom kože, kose i očiju.

Iako je došlo do značajnijeg napretka u razumijevanju funkcije trombocita uzroci prirodnih poremećaja trombocita su još uvijek u velikoj mjeri nepoznanica.

Stvaranje nacionalnog registra poremećaja funkcije trombocita i ostalih poremećaja hemostaze bi bilo od velike koristi u praćenju i liječenju ovih bolesnika.

7. Zahvale

Zahvaljujem prije svega svom mentoru prof.dr.sc. Ernestu Biliću na suradnji, pomoći i vremenu posvećenom izradi ovog diplomskog rada.

Naročito zahvaljujem svojoj obitelji što su uvijek vjerovali u mene i pružili mi beskrajnu podršku tokom cijelog života i studija.

I za kraj hvala Ivanu i svim mojim prijateljima na razumijevanju i potpori kroz mnoge ispite.

U Zagrebu, 2014.

Antonela Čirko

8. Literatura

1. Van Ommen CH et al. Clinical practice: The bleeding child. Part I: primary hemostatic disorders *Eur J Pediatr* 2012;171:1-10
2. Coller BS Historical perspective and future directions in platelet research *J Thromb Haemost* 2011;9:374-395
3. Hotinnoe B, Demmers M et al. How platelets safeguard vascular integrity *J Thromb Haemost* 2011;9:56-65
4. Coutre S Congenital and acquired disorders of platelet function
5. Sutor AH. The bleeding time in pediatrics. *Semin Thromb Hemost.* 1998;24: 6: 531-
6. Nurden AT. Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1773–82.
7. Simon D, Kunicki S, Nuget D. Platelet function defects *Haemophilia* 2008; 14: 1240–1249.
8. Zhenyu L, Keegan D, O'Brien K, Xiaoping D. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(12): 2341–2349.
9. Settipalli K, Parth L, Jianguo J, Bhavaraju K et al. Protein Kinase C isoform epsilon (ϵ) negatively regulates ADP-induced calcium mobilization and thromboxane generation in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(5): 1211–1219.
10. Peters CG, Michelson AD, Flaumenhaft R. Granule exocytosis is required for platelet spreading: differential sorting of α -granules expressing VAMP-7. *Blood* 2012; 120(1): 199–206.
11. Zwaal FA, Comfurius P, Bevers EM. Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. *Biochem Biophys Acta* 2004; 1636:119-128
12. Lecompte TP Antithrombotic agents and invasive procedures - Hematologist point of view. *Thrombosis Research* 2012, 130: 61–62
13. Seligsohn U Treatment of inherited platelet disorders *Hemophilia* 2012;18:161-165
14. Knol M et al. The Prevalence of Underlying Bleeding Disorders in Patients with Unexplained and Explained Menorrhagia. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 2013; 209;3;202-207

15. Gu Rsel T et al. Frequency of Inherited Bleeding Disorders in Adolescent Girls with Menorrhagia.
16. Chi C et al. Menorrhagia in Adolescents with Inherited Bleeding Disorders. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology* 2010. 23,4,215–222
17. Caki S et al. Screening Bleeding Disorders in Adolescents and Zoung Women with Menorrhagia *Turk J Hematol* 2013;30:168-176
18. HAYWARD CPM, RAO AK, CATTANEO M. Congenital platelet disorders: overview of their mechanisms, diagnostic evaluation and treatment *Haemoph* 2006; 12, 128–136.
19. Pinto MT, Ortiz Z. Haemophilia in developing world: success, frustrations and opportunities. *Haemophilia* 2004; 10: 14-9.
20. Hayward CPM. Diagnosis and management of mild bleeding disorders. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005;423–8.
21. Quiroga T, Goycoolea M, Munoz B et al. Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study in 148 patients. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 892–8.
22. Rao AK, Jalagadugula G, Sun L. Inherited defects in platelet signaling mechanisms. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30: 525–35
23. Philipp CS, Dilley A, Miller CH et al. Platelet functional defects in women with unexplained menorrhagia. *J Thromb Haemost* 2003;1: 477–84.
24. Nurden AT, Phillip DR, George JN. Platelet membrane glycoproteins: historical perspective *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4, 3–9
25. Simon D, Kunicki T, Nugent D. Platelet function defects. *Haemophilia* 2008; 14, 1240–1249
26. Kannan M, Ahmed RP, Jain P, Kumar R, Choudhry VP, Saxena R. Type I Glanzmann thrombasthenia: most common subtypes in North Indians. *Am J Hematol.* 2003 Oct;74(2):139-41.

27. Furlan M. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2003;1(2):243-55
28. Tripodi A et al. Thrombin generation in plasma from patients with cirrhosis supplemented with normal plasma: considerations on the efficacy of treatment with fresh-frozen plasma. *Intern Emerg Med.* 2012 Apr;7(2):139-44.
29. Stravitz RT. Potential applications of thromboelastography in patients with acute and chronic liver disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2012;8(8):513-20.

9. Životopis

Ime i prezime: Antonela Čirko

Datum rođenja: 30. svibnja 1990.

Mjesto rođenja: Hagen, Njemačka

Obrazovanje

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, redovni student, 2008.-2014.g.

VII. Gimnazija, Zagreb 2004.-2008.

Osnovna Škola "Bukovac", Zagreb 1996. - 2004.

Strani jezici

Engleski – tečno, Njemački – izvorni govornik, Španjolski – početni stupanj

Aktivnosti:

Studentski časopis „Medicinar“

- glavna urednica web izdanja (ak. god. 2010./2011.)
- urednica rubrike Znanost (ak.god. 2012./2013.)
- zamjenica glavnog urednika (ak.god. 2013./2014.)

Član Studentskog Zbora Sveučilišta u Zagrebu

- član Sveučilišne skupštine i član Vijeća biomedicinskog područja (ak. god. 2012./2013.)

Nagrade

- 2013 Dekanova nagrada za najboljeg studenta V. godine
- 2013. Posebna dekanova nagrada za studentski časopis „Medicinar“

Znanstveni radovi

- sudjelovanje na znanstvenom radu na Zavodu za neuropatologiju (ak.god. 2011./2012.)
- sudjelovanje na znanstvenom radu na Zavodu za funkcionalnu genomiku (ak.god. 2012./2013.)
- sudjelovanje na znanstvenom radu na Odjelu za hematologiju i onkologije Zavoda za pedijatriju (ak.god. 2013./2014.)

Ostale aktivnosti

- demonstrator na Zavodu za kemiju i biokemiju 1 i 2 i Zavodu za pedijatriju
- član Studentske sekcije za neuroznanost
- član Hrvatskog vijeća za mozak (Croatian brain council)
- jednomjesečna studentska razmjena u Wilhelminenspital na Odjelu za neurologiju u Beču (ak.god. 2011./2012.)
- Koordinator u Eurotransplantu (od 2014. godine)