
ProC Global – skríníng systému proteínu C

Marušincová Jana

Venózný tromboembolizmus (VTE)

- 3. miesto vo výskyte medzi kardiovaskulárnymi ochoreniami
- pojem „VTE“ zahŕňa dve chorobné jednotky, ktoré sú navzájom veľmi úzko spojené:
 - hĺbková žilová trombóza - flebotrombóza
 - pľúcna embóliaalebo sú označené ako rôzne prejavy toho istého chorobného procesu

Hĺbková ilova trombóza (HT)

- trombus je vo včasných štádiách voľný, neadheruje k ilovej stene !
- bezprostredným následkom môže byť fatálna pľúcna embólia (PE)
- neskorým dôsledkom býva:
 - potromboticky syndróm (potromboticka sekundárna ilova insuficiencia
 - opakovane embolizácie do riečiska arteria pulmonalis → pľucna hypertenzia

- PE je klinicky závažnejšia a často končí letálne
- potrombotický syndróm sa vyskytuje častejšie a má zdĺhavý priebeh
- často postihuje jedincov v produktívnom veku → sociálne ekonomický problém
- 90. roky - významné objavy v etiopatogenéze VTE – objasnenie príčiny vzniku trombózy, vyskytujúcej sa hlavne familiárne

Rizikové faktory

- možné rozdelenie na:
 - vrodené a získané
 - dispozičné a expozičné

Dispozičné:

vek, rodinná a osobná anamnéza, varixy a žilová insuficiencia, obezita, srdcové choroby, nádorové ochorenie, vrodené a získané trombofilné stavy

Expozičné:

operácie, gravidita, šestonedelie, hormonálna antikoncepcia, hormonálna substitučná terapia, úraz, imobilizácia, dehydratácia

Vrodená trombofília

- stav s vrodenou poruchou v regulácii procesu krvného zrážania, ktorý zapríčiňuje zvýšenú náchylnosť k trombóze
- manifestácia ochorenia v mladom veku
- familiárny výskyt
- závažná alebo neobvyklá lokalizácia
- rekurencia trombóz
- niekedy zistené súčasne 2 genetické faktory trombózy (riziko sa mnohonásobne zvyšuje)

-
- vrodená porucha vedie k protrombotickému stavu:
 - strata alebo zníženie funkcie inhibítorov koagulácie (AT, PC, PS)
 - zvýšenie aktivity koagulačných proteínov (FV Leiden, mutácia protrombínu, zvýšená hladina FVIII)
 - výsledkom je hemostatická nerovnováha s prevahou koagulácie, nedostatkom jej inhibítorov alebo deficitom fibrinolýzy
-

Vrodené trombofilné stavy

■ Deficit antitrombínu

AT je najsilnejší inhibítor trombínu a ostatných serínových proteáz (XIIa, XIa, IXa, Xa).

- prítomnosť heparínu reakciu tvorby komplexu značne urýchľuje
- je syntetizovaný v pečeni, biologický polčas je 48 hod.
- vrodený deficit:
 - v populácii sa vyskytuje 1/2000 až 1/5000
 - je spôsobený mutáciami génu po celej jeho dĺžke
 - je silne trombofilný (riziko trombózy je 25-50x vyššie)

- klinickým prejavom je hĺbková venózna trombóza, väčšinou dolných končatín a PE

▪ Deficit proteínu C

PC v aktivovanej forme je selektívnym inhibítorom FVa, FVIIIa

- k jeho aktivácii dochádza na povrchu endotelu komplexom trombín s trombomodulínom
 - vitamín K₁ dependentný inhibítor
 - je syntetizovaný v pečeni, biologický polčas je 5-7hod.
-

- deficit PC je geneticky veľmi rôznorodé ochorenie
- známych 160 mutácií pozdĺž celého génu
- mutácie môžu spôsobiť kvantitatívny nedostatok (1.typ) alebo jeho dysfunkciu (2.typ)
- riziko trombózy je 10-15x vyššie

▪ Deficit proteínu S

PS je kofaktor aktivovaného proteínu C

- vitamín K₁ dependentný inhibítor
- je syntetizovaný v pečeni, biologický polčas je 48 hod.

- v plazme sa vyskytuje v dvoch formách:
 - **voľná**, ktorá je funkčne aktívna (tvorí 40%) a viaže sa na APC
 - **viazaná** na C4bBP (zložka komplementu), nemá kofaktorovú aktivitu – 60%
- riziko trombózy je 6-10x vyššie

Deficity prirodzených inhibítorov koagulácie v **homozygotnej forme** predstavujú veľmi závažné ochorenia alebo nie sú zlučiteľné so životom

▪ APC rezistencia

APC-R je zvýšená odolnosť FVa voči inhibičnému účinku aktivovaného proteínu C

- systém proteínu C je prirodzený antikoagulačný mechanizmus (bráni nárastu trombusu a oklúzii ciev)
- aktivovaný proteín C je kľúčový enzým v systéme proteínu C
- APC spôsobuje za prítomnosti fosfolipidov a Ca^{+2} inaktiváciu dvoch aktivovaných koagulačných faktorov – FVa, FVIIIa a tým reguluje tvorbu trombínu

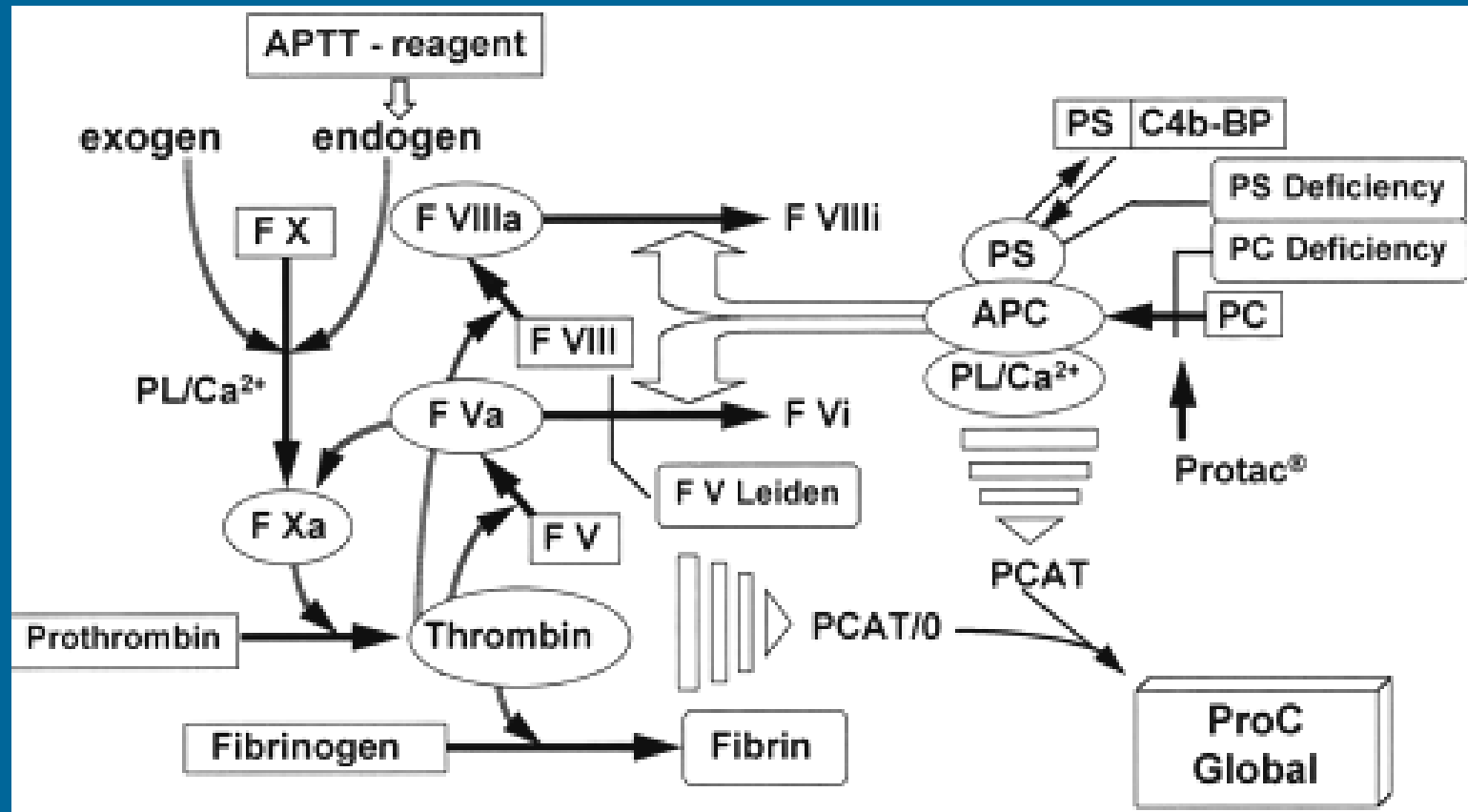
- APC–R je vo viac ako 90% spôsobená mutáciou FV Leiden

FV Leiden je bodová mutácia génu FV (G→A v nukleotide 1691) v exone 10, čo vedie k zámene aminokyseliny arginínu v pozícii 506 za glutamín

FV Cambridge – zámene arginínu za treonín (pozícia 306)

FV Hong Kong – zámene arginínu za glycín (pozícia 306)

- obe mutácie nespôsobujú APC-R



■ Mutácia protrombínu FII 20210 A

Mutácia znižuje inhibíciu trombínu, čo má za následok jeho zvýšenú aktivitu

- bodová mutácia v 5.exóne v polohe 20210 - guanín je zamenený za adenín
- spôsobuje zvýšenú dispozíciu k trombóze (2,1-2,8x)
- riziko VET sa zvyšuje v kombinácii s inými genetickými faktormi (napr. deficit PS, FV Leiden)

■ Zvýšená hladina F VIII

- hodnoty nad 150%
- riziko stúpa so zvyšujúcou sa hladinou faktora
- genetický podklad zatiaľ nie je známy
- hladina faktora sa zvyšuje pri reakciách akútnej fázy, v gravidite
- laboratórny ukazovateľ možnej retrombózy

ProC Global

- **Výrobca:** Siemens Healthcare Diagnostic Products, Marburg, GERMANY
- **Použitie:** koagulačný test na určenie antikoagulačnej kapacity systému proteínu C v ľudskej plazme a používa sa na diagnostikovanie vrodených alebo získaných deficientných stavov v systéme proteínu C.
Pri použití v spojení s plazmou deficitnou na faktor V je test vhodný na stanovenie faktora V Leiden
- **Princíp metodiky:** inkubácia plazmy s aktivátorom proteínu C (hadí jed Agkistrodon contortrix) a aktivátorom kontaktnej fázy spúšťa aktiváciu endogénneho PC a

ProC Global

vnútornej koagulačnej kaskády

- koagulácia sa spúšťa pridaním iónov kalcia
- aktivovaný PC (spolu s PS) inaktivuje prokoagulačné faktory Va, VIIIa → oddelenie tvorby zrazeniny
- stanovuje sa čas do vytvorenia zrazeniny

PCAT – Protein C Activity- dependent Clotting Time
(čas zrážania závislý od aktivity proteínu C)

- vzorky so zníženou kapacitou PC majú koagulačný čas predĺžený menej výrazne
- deficit koagulačných faktorov alebo prítomnosť heparínu je nutné vylúčiť (môžu predĺžiť koagulačný čas)

ProC Global

- meria sa kontrolný materiál PCAT/0, ktorý musí mať hodnoty ≤ 60 sekúnd
- pri meraní PCAT/0 sa miesto aktivátora PC použije pufor
- **Vyšetrovaný materiál:** odber - citrátová plazma; centrifugácia 3500 ot./min. po dobu 10 minút
 - pri zmrazovaní vzorky je potrebné oddelenú plazmu opakovane scentrifugovať a rýchlo zmraziť
 - stabilita vzorky: +15 až +25 °C 4 hod.
 - 20 °C 1 mesiac

ProC Global

- zmrazené vzorky rozmrazovať do 10 min. pri 37 °C a vyšetriť do 2 hod.

- Vyhodnotenie výsledkov: na zabezpečenie porovnateľnosti výsledkov medzi laboratóriami sa odporúča vypočítať normalizovaný pomer NR

$$NR = (\text{PCAT:PCAT/0})_{\text{vzorka}} \times CF$$

$$CF = SV / (\text{PCAT:PCAT/0})_{\text{SHP}}$$

CF – kalibračný faktor; SHP - štandardná ľudská plazma; SV – hodnota senzitivity SHP (príbalový leták)

ProC Global

- Obmedzenia metodiky:
 - nesprávny odber (predčasná aktivácia plazmy)
 - nedostatočná centrifugácia
 - liečba derivátmi kumarínu znižuje aktivitu faktorov = výsledky sú pod stanoveným limitom
 - trombolytická terapia môže spôsobovať falošne pozitívne výsledky (plazmín deštruuje PC = skrátené koagulačné časy)

ProC Global v číslech na OKBaH

	N	ProC+ FVL+	ProC+ FVL -	ProC+ FVL ?	ProC+ FVL+ FVIII+	ProC+ FVL - FVIII+	ProC+ FVL ? FVIII+	
r.2008	293	65	30	1	6	9	0	111
r.2009	284	42	16	1	13	6	1	79

	N	ProC+ FVL+	ProC+ FVL -	ProC+ FVL+ FVIII+	ProC+ FVL - FVIII+	ProC+ FVL+ PS+	ProC+ FVL+ FVIII+ PS+	PS+	FVIII+ PS+	
r.2010	261	24	3	8	3	16	2	6	3	65

Ďakujem za pozornosť

