

Závislost aPTT a hladiny FXII

Hematologický seminář Siemens Healthcare, s.r.o. 2019

VERONIKA ŠIDOVÁ



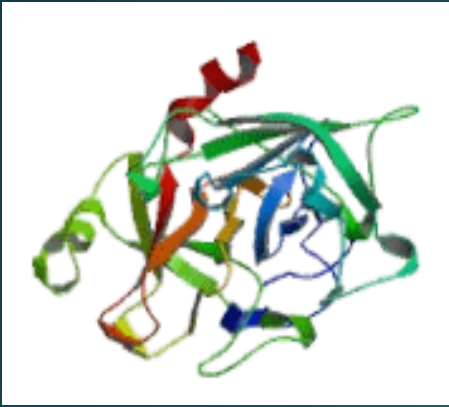
MAGDA POPELOVÁ



Faktor XII (Hagemanův faktor)

- ▶ Glykoprotein syntetizovaný v játrech
- ▶ 596 aminokyselin
- ▶ MW: 80 - 84kDa
- ▶ Biologický poločas: 50 – 70 hodin
- ▶ Serinová proteáza
- ▶ Zymogen v plazmě i séru
- ▶ Kódovaný genem FXII, na konci dlouhého raménka 5. chromozomu
- ▶ Aktivuje FXI, prekalikrein a HMWK





Aktivace FXII

- ▶ **Autoaktivace**/aktivace pevnou fází:
 - ▶ Kontakt se subendotelovými strukturami při poranění
- ▶ **Proteázami**: kalikreinem, trypsinem, plazminem
- ▶ **Aktivační povrchy**: sklo, kaolin, celit, dextran, sulfáty, kyselina elagová, endotoxiny a jiné

Role FXII

- ▶ Potřebný ke spuštění koagulace **přes vnitřní systém** *in vitro, in vivo* nemá pro spuštění koagulace rozhodující vliv
- ▶ Úloha v aktivaci **fibrinolýzy**
- ▶ Deficit FXII **nebývá provázen s krvácením**, některé práce potvrdily vysokou **prevalenci deficitu FXII** u pacientů s rekurentními arteriálními a žilními **trombózami**
 - ▶ Redukovaný vznik bradykininu → nedostatečné uvolnění tPA
- ▶ Deficit FXII je spojen s výskytem častějších potratů

Defekty FXII

5

- ▶ Deficit FXII byl poprvé popsán r. 1955 u **Johna Hagemana** (37 let), který zemřel na **plicní embolii** po pracovním úraze. Laboratorně byly zjištěny prodloužené koagulační časy a deficit FXII **bez krvácivých projevů**

▶ Vrozený defekt FXII

- ▶ Závažný/homozygotní forma – prevalence 1/1 milion obyvatel – výrazně prodloužené aPTT
- ▶ Lehký/heterozygotní forma – až 10 % populace
- ▶ Autozomálně recesivní dědičnost
- ▶ Postihuje stejně muže i ženy

▶ Získaný defekt FXII

- ▶ Snížená syntéza (hepatopatie)
- ▶ Zvýšené ztráty (nefrotický syndrom)
- ▶ Nadměrná spotřeba (DIC, endotoxinové sepse)
- ▶ Inhibitor proti FXII

Diagnostika

- ▶ **Prodloužení času aPTT**
 - ▶ **Korekce** časů směsných testů 1:1 s normální plazmou
- ▶ Při prodlouženém aPTT **vyloučíme jiné vlivy**, např. sníženou hladinu FVIII , protilátky typu LA atd.
- ▶ PT většinou beze změny
- ▶ Stanovení hladiny faktoru XII za použití faktor XII deficitní plazmy

Stanovení aPTT

▶ V přítomnosti čištěných **fosfolipidů**, **kalcia** a povrchového **aktivátoru** dochází v plazmě chudé na destičky k aktivaci mediátorů **vnitřní cesty koagulace**, následně k přeměně protrombinu na trombin a fibrinogenu na fibrin.

- ▶ **Kontaktní aktivátory** se záporně nabitým povrchem
 - ▶ Kaolin, křemičitany, kyselina elagová, polyfenoly nebo sulfatidy kombinované s kaolinem
- ▶ **Fosfolipidy** s různou citlivostí k faktorům, LA, heparinu
 - ▶ Syntetické fosfolipidy, fosfolipidy ze zvířecích tkání nebo z rostlin
- ▶ **Ca²⁺**

Dade® Actin® Activated Cephaloplastin Reagent

- ▶ Střední citlivost k faktorům
- ▶ Střední citlivost k heparinu
 - ▶ Aktivátor kyselina elagová
 - ▶ Fosfolipidy z králičího mozku
- ▶ Stabilita otevřené lahvičky při teplotě 2 – 15 °C: 7 dní



Dade® Actin® FS Activated PTT Reagent

- ▶ Vysoká citlivost k faktorům
- ▶ Vysoká citlivost k heparinu
 - ▶ Aktivátor kyselina elagová
 - ▶ Fosfolipidy ze sojových bobů

- ▶ Stabilita otevřené lahvičky při teplotě 2 – 15 °C: 7 dní



Dade® Actin® FSL Activated PTT Reagent

10

- ▶ Vysoká citlivost k LA
- ▶ Dobrá citlivost k faktorům a heparinu
 - ▶ Aktivátor kyselina elagová
 - ▶ Fosfolipidy z králičího mozku a sojových bobů

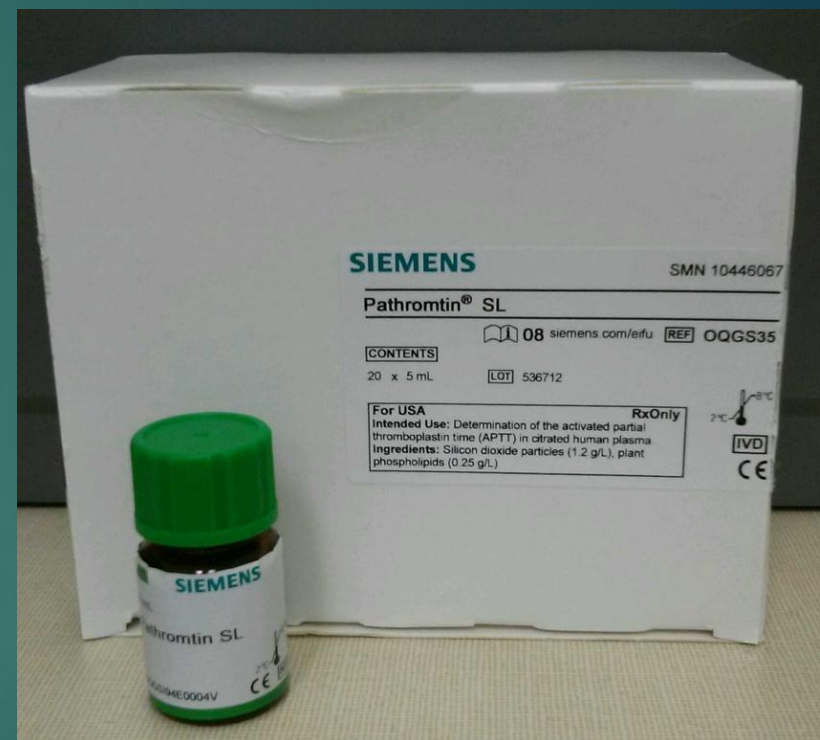


Stabilita otevřené lahvičky při teplotě 2 – 15 °C: 7 dní

Pathromtin® SL

11

- ▶ Vysoká citlivost k faktorům
- ▶ Vysoká citlivost k heparinu
- ▶ Dobrá citlivost k LA
 - ▶ Aktivátor silicium dioxid
 - ▶ Rostlinné fosfolipidy, NaCl, HEPES



Stabilita otevřené lahvičky při teplotě 2 – 25 °C: 14 dní

reagencie	citlivost k faktorům	citlivost k LA	citlivost k heparinu	aktivátor	fosfolipidy
Actin	střední	nízká	střední	kys.elagová	králičí mozek
Actin FS	vysoká	nízká	vysoká	kys.elagová	sojové boby
Actin FSL	střední	vysoká	střední	kys.elagová	králičí mozek + sojové boby
Pathromtin SL	vysoká	střední	vysoká	siliciumdioxid	rostlinné fosfolipidy

reagencie	teplota	Stabilita otevřené lahvičky
Actin	2 – 15 °C	7 dní
Actin FS	2 – 15 °C	7 dní
Actin FSL	2 – 15 °C	7 dní
Pathromtin SL	2 – 25 °C	14 dní

Nejčastější příčiny prodloužených časů aPTT

aPTT základní screeningový koagulační test

➔ **globální zkoumání** aktivit faktorů vnitřního koagulačního systému FXII, FXI, FXI, FVIII, FX, FV, FII, PK, HMWK, i aktivitu fibrinogenu

- ▶ i.v. léčba heparinem
- ▶ Léčba warfarinem
- ▶ Von Willebrandova choroba
- ▶ Antifosfolipidový syndrom
- ▶ Konsumpční koagulopatie
- ▶ Deficity koagulačních faktorů



Prodloužení aPTT

Laboratorní nálezy

Prodloužené aPTT vs. hladina FXII

Pacient	aPTT [sec]	FXII [%]
1	66,5	25,0
2	25,6	122,6
3	33,6	78,5
4	>150	1,8
5	52,2	7,4
6	131,0	2,3
7	38,6	67,2
8	61,2	51,6



Existuje závislost časů
aPTT a hladiny FXII?

Metoda	Referenční rozmezí
aPTT (Pathromtin SL)	24 – 38 sec
aPTT (Actin FS)	22 – 28 sec
FXII	60 – 140 %

► Výsledky měřeny na OKH Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (2018, 2019)

aPTT:

- Pathromtin SL
- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex BCS XP

FXII:

- Actin FS
- FXII Deficient Plasma - Hyphen
- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex CS 2000i

aPTT vs. FXII - materiál s deklarovaným rozmezím hodnot

15

▶ Měřená plazma:

- ▶ SHP (Standart Human Plasma, ORKL175, Siemens)
- ▶ Control Plasma N (ORKE415, Siemens)
- ▶ Control Plasma P (OUPZ175, Siemens)

▶ Reagencie aPTT:

- ▶ Patromtin SL
- ▶ Actin FS



FXII Deficient Plasma
(Hyphen)

Poměr měřené plazmy
1/1
3/4
1/2
1/4
2/5
1/5
0/1

▶ Měřeno na OLM, SMN a.s. Nemocnice Prostějov (2018)

Dále použito

- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex CS 2000i

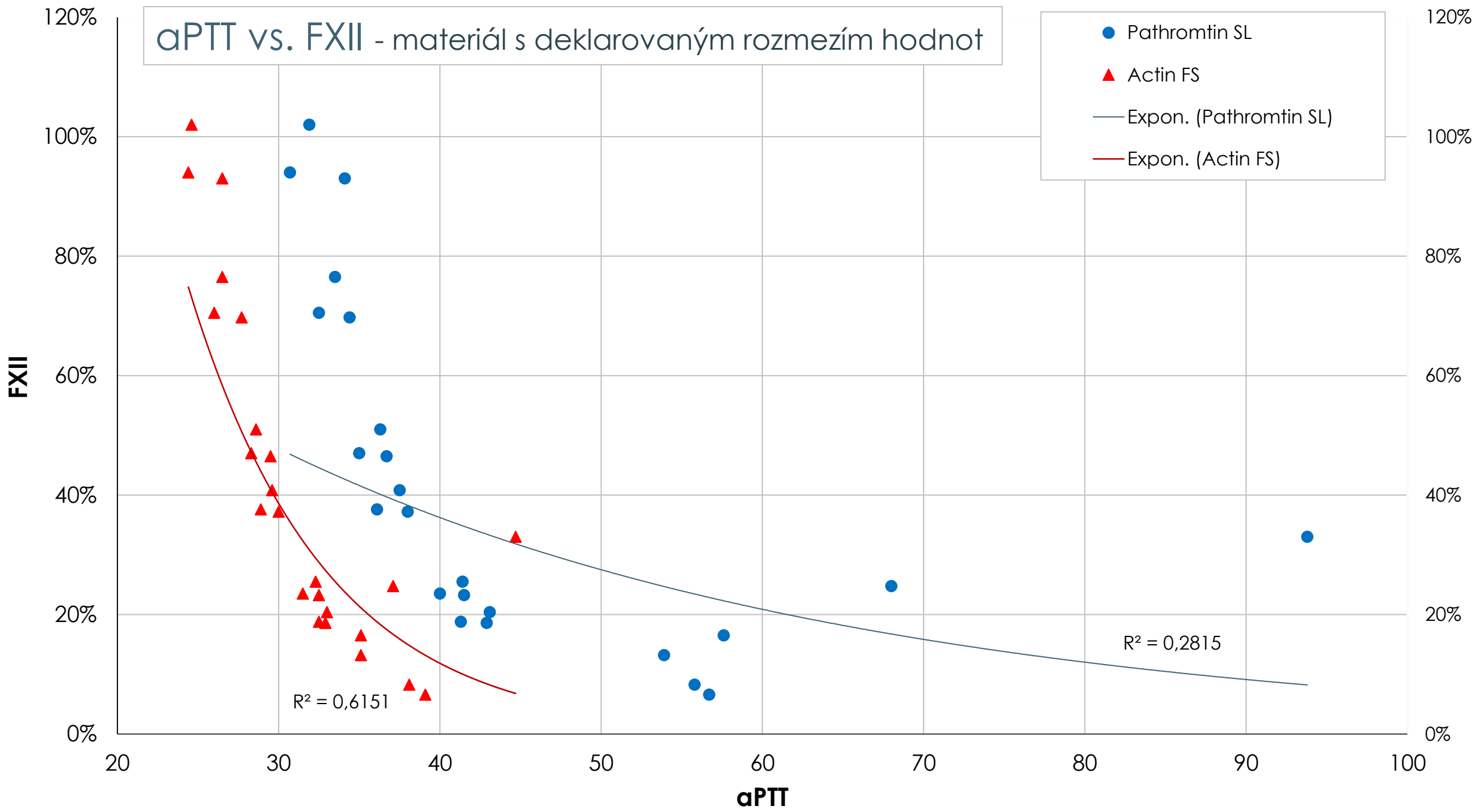
aPTT vs. FXII - materiál s deklarovaným rozmezím hodnot

16

Plazma	Poměr plazmy	FXII	Actin FS [sec]	Pathromtin SL [sec]
Control Plasma N (LOT *31)	1/1	102,00%	24,6	31,9
Control Plasma N (LOT *77)	1/1	94,00%	24,4	30,7
SHP	1/1	93,00%	26,5	34,1
Control Plasma P	1/1	33,00%	44,7	93,8
Control Plasma N (LOT *31)	3/4	76,50%	26,5	33,5
Control Plasma N (LOT *77)	3/4	70,50%	26	32,5
SHP	3/4	69,75%	27,7	34,4
Control Plasma P	3/4	24,75%	37,1	68
Control Plasma N (LOT *31)	1/2	51,00%	28,6	36,3
Control Plasma N (LOT *77)	1/2	47,00%	28,3	35
SHP	1/2	46,50%	29,5	36,7
Control Plasma P	1/2	16,50%	35,1	57,6

Plazma	Poměr plazmy	FXII	Actin FS [sec]	Pathromtin SL [sec]
Control Plasma N (LOT *31)	1/4	25,50%	32,3	41,4
Control Plasma N (LOT *77)	1/4	23,50%	31,5	40
SHP	1/4	23,25%	32,5	41,5
Control Plasma P	1/4	8,25%	38,1	55,8
Control Plasma N (LOT *31)	2/5	40,80%	29,6	37,5
Control Plasma N (LOT *77)	2/5	37,60%	28,9	36,1
SHP	2/5	37,20%	30,0	38,0
Control Plasma P	2/5	13,20%	35,1	53,9
Control Plasma N (LOT *31)	1/5	20,40%	33	43,1
Control Plasma N (LOT *77)	1/5	18,80%	32,5	41,3
SHP	1/5	18,60%	32,9	42,9
Control Plasma P	1/5	6,60%	39,1	56,7
FDP FXII clear	0/1	0,00%	****.*	****.*

aPTT vs. FXII - materiál s deklarovaným rozmezím hodnot

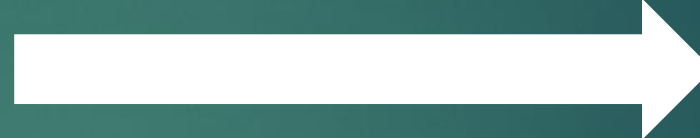


aPTT vs. FXII – patientská plazma s dilucí

- ▶ Měřena **patientská plazma**
 - ▶ FXII = 100 %
 - ▶ Plazma čerstvá i zamražená
 - ▶ Pacienti bez defektů ostatních faktorů

- ▶ Reagencie aPTT:
 - ▶ Patromtin SL
 - ▶ Actin FS

FXII Deficient Plasma (Hyphen)



Poměr měřené plazmy
1/1
3/4
1/2
1/4
2/5
1/5
0/1

- ▶ Měřeno na OLM, SMN a.s. Nemocnice Prostějov (2018)

Dále použito

- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex CS 2000i

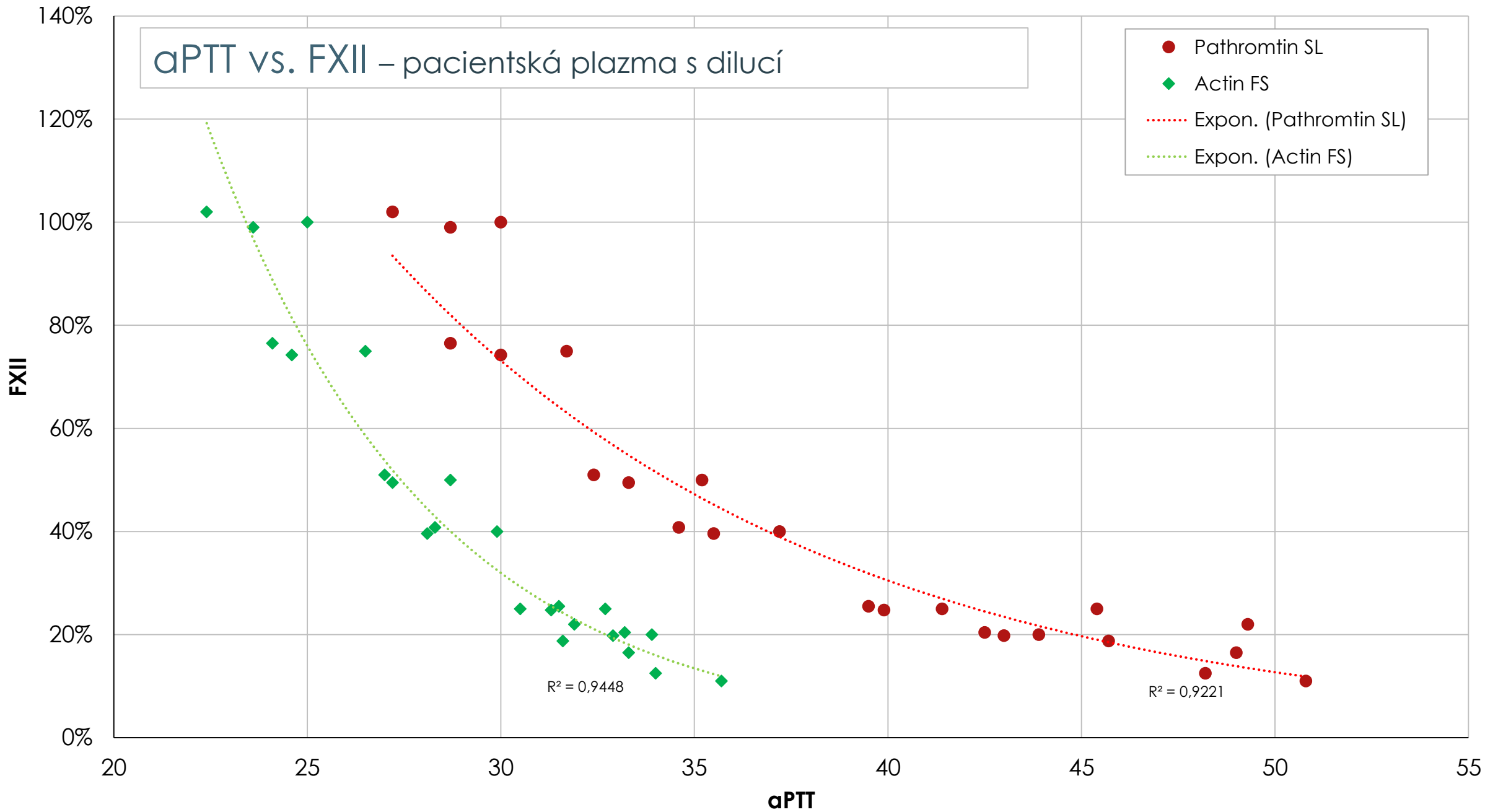
aPTT vs. FXII – patientská plazma s dilucí

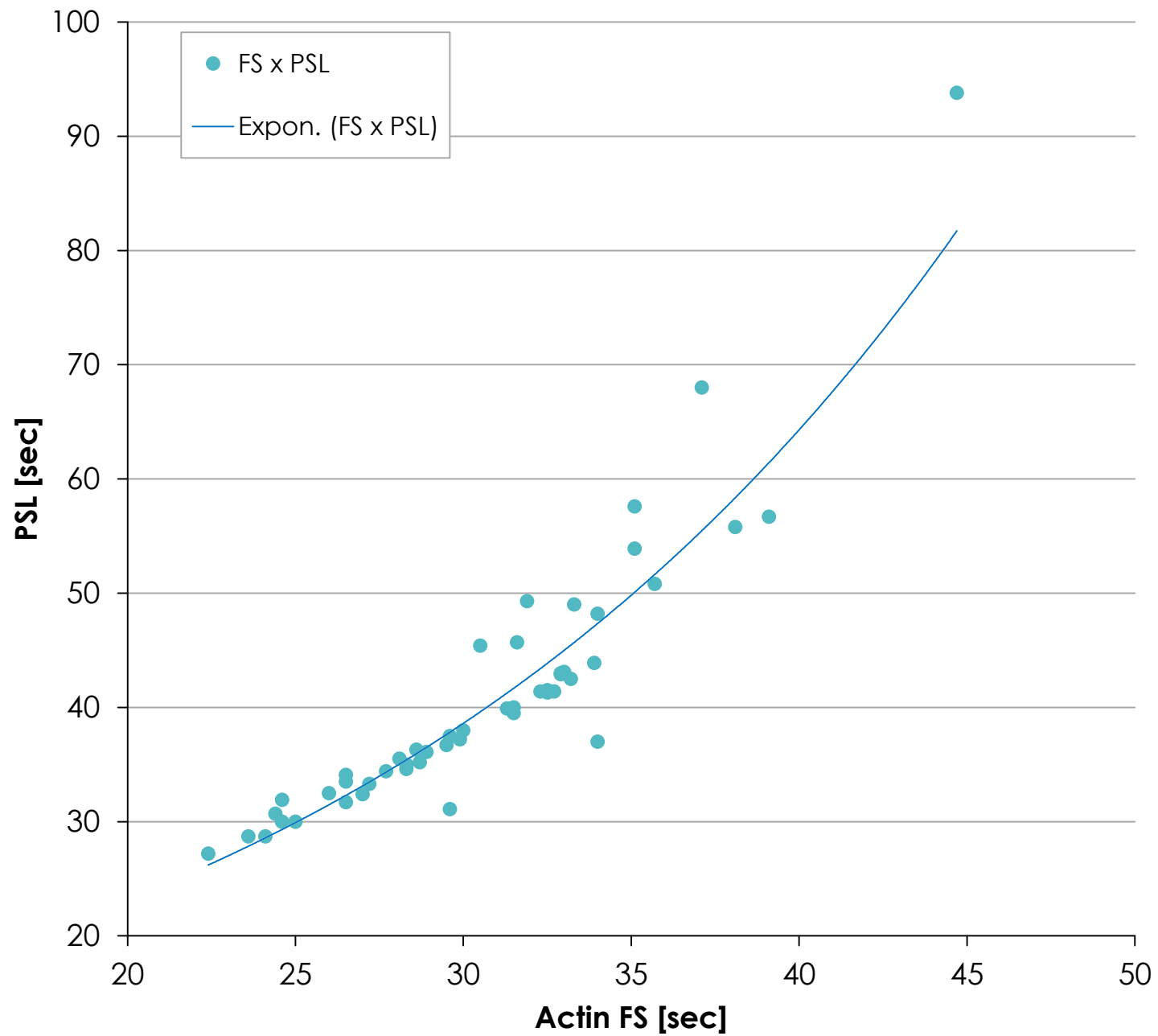
19

Plazma	Poměr plazmy	FXII	Actin FS [sec]	Pathromtin SL [sec]
*4098P	1/1	100%	25	30,0
*4099P	1/1	102%	22,4	27,2
*4100P	1/1	99%	23,6	28,7
*4098P	1/2	50%	28,7	35,2
*4099P	1/2	51%	27	32,4
*4100P	1/2	49,5%	27,2	33,3
*4098P	3/4	75%	26,5	31,7
*4099P	3/4	76,5%	24,1	28,7
*4100P	3/4	74,3%	24,6	30,0
*4098P	1/4	25%	32,7	41,4
*4099P	1/4	25,5%	31,5	39,5
*4100P	1/4	24,8%	31,3	39,9

Plazma	Poměr plazmy	FXII	Actin FS [sec]	Pathromtin SL [sec]
*4098P	2/5	40%	29,9	37,2
*4099P	2/5	40,8%	28,3	34,6
*4100P	2/5	39,6%	28,1	35,5
*4098P	1/5	20,0%	33,9	43,9
*4099P	1/5	20,4%	33,2	42,5
*4100P	1/5	19,8%	32,9	43,0
646*	1/1	25%	30,5	45,4
573*	1/1	22%	31,9	49,3
646*	1/2	12,5%	34	48,2
573*	1/2	11%	35,7	50,8
646*	3/4	18,8%	31,6	45,7
573*	3/4	16,5%	33,3	49,0

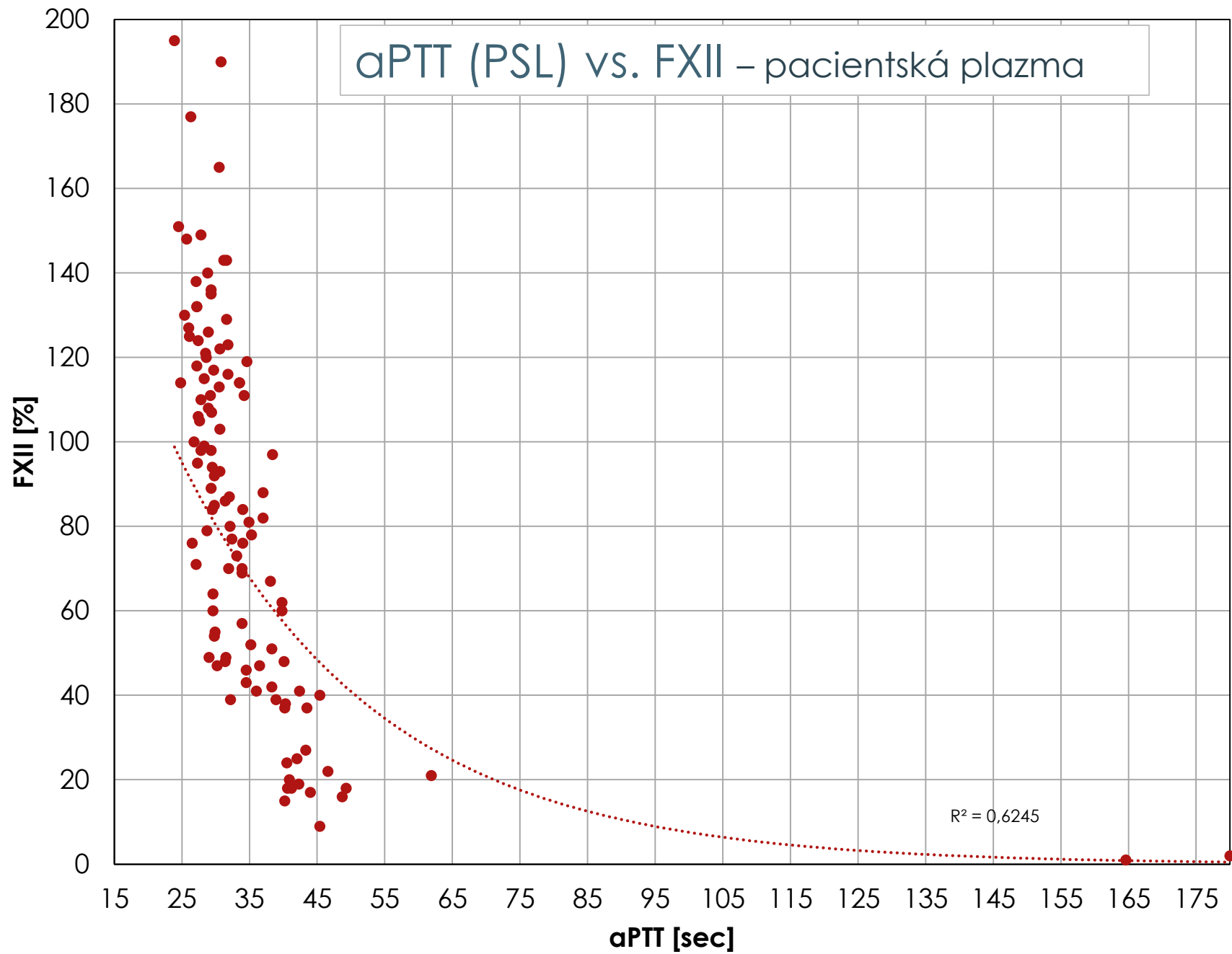
aPTT vs. FXII – pacientská plazma s dilucí





Závislost aPTT

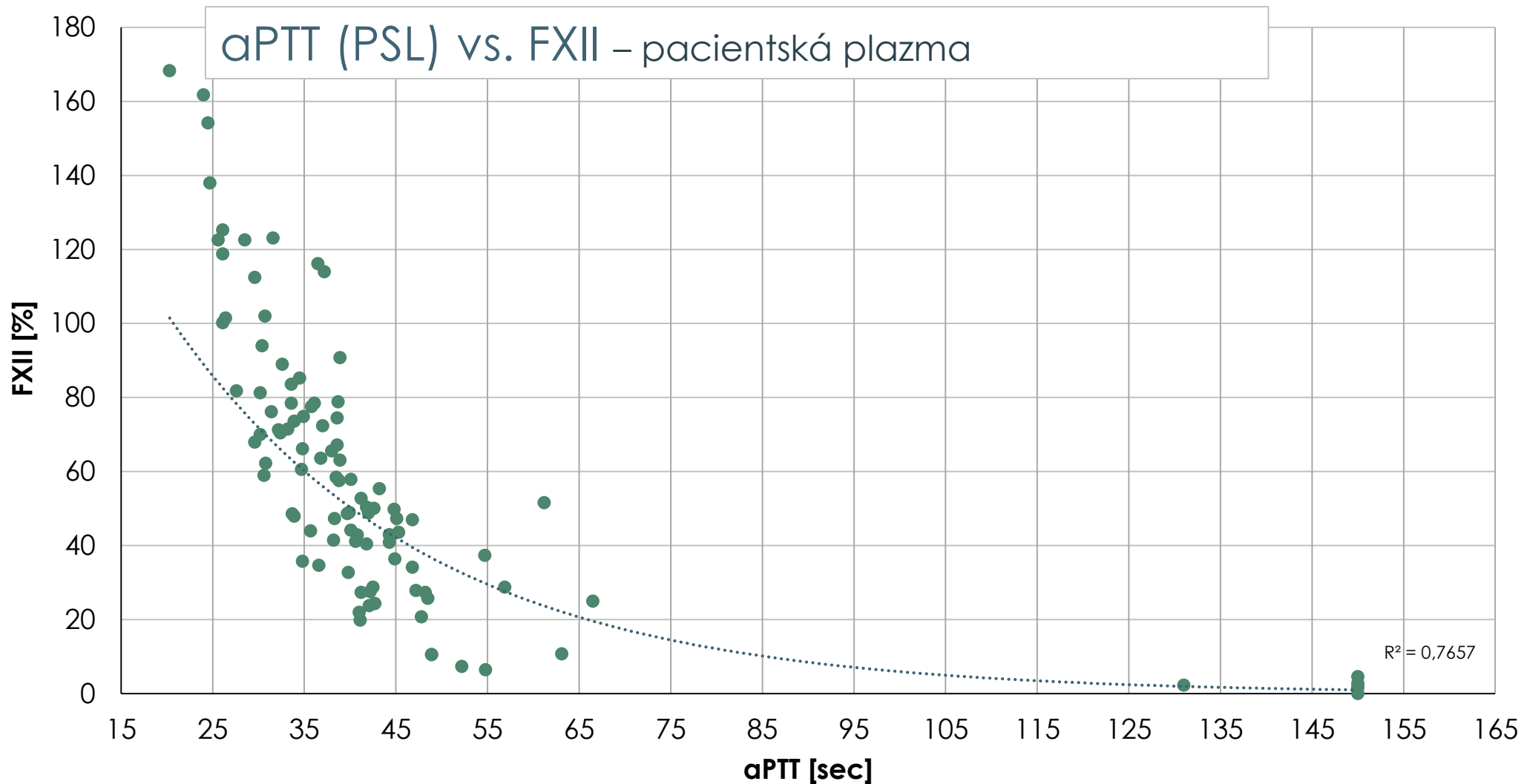
Pathromtin SL vs. Actin FS



► Měřeno na OLM, SMN a.s.
Nemocnice Prostějov (2018,
2019)

Dále použito

- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex CS 2000i



► Výsledky měřeny na OKH Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (2018, 2019)

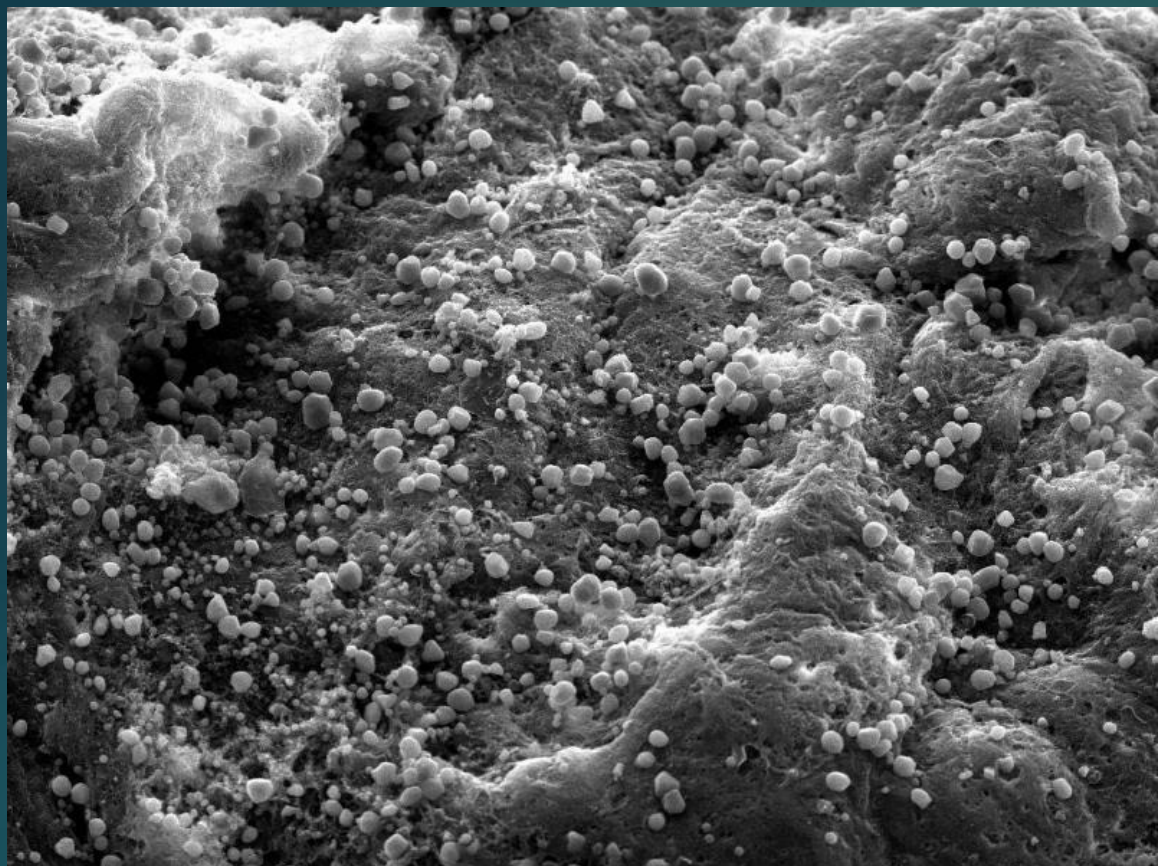
aPTT:

- Pathromtin SL
- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex BCS XP

FXII:

- Actin FS
- FXII Deficient Plasma - Hyphen
- Calcium Chloride Solution
- Analyzátor Sysmex CS 2000i

- ▶ Existuje **exponenciální závislost** aPTT a aktivity FXII
- ▶ Vzájemná závislost koagulačních časů Pathromtin SL a Actin FS je také **exponenciální**
- ▶ **Jisté prodloužení** koagulačních časů aPTT nastává až při hladinách FXII okolo 20%
- ▶ Je potřeba brát v potaz klinický stav pacienta
- ▶ Vliv ostatních částí systému homeostázy
- ▶ V přítomnosti silného inhibitoru typu LA může být vyšetření ovlivněno (ve smyslu snížení)
- ▶ Interference silika částic PSL (s medikací, preanalytické fáze, návykové látky atd. - pacient s neúměrně prodlouženým PSL vůči AFS a AFSL, aniž bychom se dopátrali přesné příčiny)



SEM MAG: 500 x DET: SE Detector 200 um
HV: 30.0 kV DATE: 06/13/11 Vega ©Tescan
VAC: HiVac Device: 5135 Digital Microscopy Imaging

Děkuji za pozornost!