zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 154
proLékaře.cz | 9.12.2026

ProC®global u pacientů s antifosfolipidovými protilátkami

Buliková A.[1], Némethová D.[2], Penka M.[1], Zavřelová J.[1], Dušek L.[2]
[1]Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Brno
[2]Centrum biostatistiky a analýz, Masarykova Univerzita Brno

Souhrn
Antifosfolipidové protilátky (APA) jsou spojeny s trombotickými příhodami a opakovanými ztrátami plodu. Jejich možné působení na koagulační systém je zřejmě různorodé a může vést k protrombotické dispozici. Důležitý mechanismus, který je zmiňován v těchto procesech, je vliv na systém inhibitoru proteinu C. Cílem naší studie bylo určit změny systému proteinu C u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami za použití testu ProC®global. Bylo vyšetřeno 126 pacientů a 64 osob kontrolní skupiny. Hodnoty ProC®global byly signifikantně nižší u pacientů nežli u zdravých osob (p < 0,001) a u pacientů, kteří prodělali žilní trombembolismus (p < 0,001) při srovnání s osobami bez této komplikace. Za použití ROC analýzy jsme mohli stanovit rozhraní pacientů s vyšším rizikem trombózy. Hodnoty ProC®global < 0,8 byly u žen spojeny s 1,8násobným zvýšením rizika trombózy, u mužů hodnoty < 0,71 s 1,7násobným.
Klíčová slova: antifosfolipidové protilátky, ProC®global, trombóza, predikce rizika

Summary
Buliková A., Némethová D., Penka M., Zavřelová J., Dušek L.: ProC®global in patients with antiphospolipid antibodies
Antiphospholipid antibodies (APA) are known to be associated with thrombembolic events and/or recurrent foetal loss. Their possible action to the blood coagulation system seems to be various and could lead to prothrombotic tendency. An important mechanism involved in this process has been referred – the influence on the protein C inhibiting pathway. The aim of our study was to determine abnormalities in protein C pathway by the test ProC®global in patients with antiphospholipid antibodies. 126 patients and 64 controls were evaluated. ProC®global values were significantly lower (p < 0.001) in patients than in healthy persons and in patients who undervent venous thromebolism (p < 0.001) when comparing them with persons without this complication. Using ROC analysis we could determine cut off patients with higer risk of the thrombosis. In women ProC®global value < 0.8 were asociated with the 1.8-fold thrombotic risk increasing, in men ProC®global value < 0.71 with 1.7-fold.
Key words: antiphospholipid antibodies, ProC®global, thrombosis, risk prediction

Trans. Hemat. dnes, 11, 2005, No. 4, p. 154–161.

Úvod

Trombofilní tendence je u antifosfolipidových protilátek (APA) důsledkem mnohočetného vlivu na koagulační kaskádu. Významnou roli hraje ovlivnění náležité funkce systému proteinu C, a to buď přímo, nebo častěji ovlivněním jeho kofaktorů (1-6). V roce 1995 byl vyvinut jednoduchý test k zjištění funkčních odchylek systému proteinu C - test ProC®global (7, 8). Zachycuje jednak funkční ovlivnění krevního srážení v přítomnosti Leidenské mutace faktoru V, získané rezistence k aktivovanému proteinu C, deficitu proteinu C, deficitu proteinu S, ale také odráží vychýlení hemokoagulační rovnováhy u stavů, provázených zvýšenou aktivitou faktoru VIII. Dokonce po vyloučení všech těchto jednotlivých možností je snížená hodnota testu ProC®global stále spojena s vyšším rizikem trombózy (9, 10). Leidenská trombofilní skupina udává u tohoto testu při použití hodnoty „cut-off" < 0,68 riziko trombózy s OR 4,3 po vyloučení deficitů proteinu C, proteinu S a Leidenské mutace FV.

Při použití u pacientů s antifosfolipidovými protilátkami jsou výsledky tohoto testu rozdílné. Někteří autoři neprokázali statisticky významné rozdíly v hodnotě testu ProC®global u pacientů s lupus antikoagulans mezi skupinou s klinickou manifestací trombózy a nemocnými bez klinických příznaků (10). Jiné nálezy dokladují, že skupina nemocných s inhibitory typu lupus antikoagulans, které více ovlivňují test s jedem Russelovy zmije (dRVVT), nežli test s kaolinovou suspenzí (KCT), a tím jsou považovány za více asociované s trombózou (11-15), mají významněji ovlivněn ProC®global test (16). Ani v této studii však jasná korelace poklesu ProC®global s klinickou manifestací trombózy nebyla prokázána se statistickou významností. Naše vlastní předchozí práce však prokazovaly statisticky významný pokles testu ProC®global u klinické manifestace trombózy při primárním výskytu lupus antikoagulans, tedy u nemocných bez průkazu přítomnosti revmatického či nádorového procesu (17, 18).

Soubor pacientů

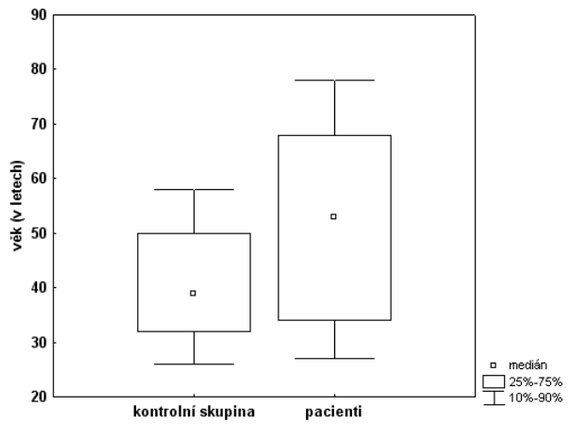
Do hodnocení bylo zařazeno 126 nemocných s přítomností antifosfolipidových protilátek tj. s lupus antikoagulans

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 155
proLékaře.cz | 9.12.2026

Tab. 1. Charakteristika souboru.

	jen LA	LA + ACLA	jen ACLA*	jen antiß$_2$-GPI	žádné APA	Celkem
pacienti ženy	29	40	13	2	0	84
pacienti muži	19	21	2	0	0	42
kontroly ženy	0	0	0	0	38	38
kontroly muži	0	0	0	0	26	26
celkem	48	61	15	2	64	190

*slabá pozitivita ACLA zařazena mezi negativní nálezy



Obr. 1. Věk ve skupině kontrolní a u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami.

a/nebo s průkazem antikardiolipinů ve třídě IgM a/nebo IgG, případně s průkazem protilátek proti β_2-glykoproteinu I. Současně bylo vyšetřeno 64 zdravých dobrovolníků, u nichž byla přítomnost antifosfolipidových protilátek testováním vyloučena. U těchto probandů nikdy nedošlo ke klinické manifestaci trombózy či ke spontánním ztrátám plodu.

Pacienti byli podle klinické manifestace rozděleni do skupin; MV+ při anamnéze prodělané žilní trombózy, případně MV-, pokud ke klinické manifestaci v žilním řečišti nedošlo. Analogicky byla vytvořena skupina MA+ z nemocných, u nichž došlo k manifestaci trombózy v arteriálním řečišti, pacienti, kteří tento typ trombotických příhod neprodělali, byli zařazeni do skupiny MA-. Ženy, které prodělaly minimálně jednou ztrátu plodu, byly zařazeny do skupiny SPA+, zatímco ženy bez těchto porodnických komplikací, tvoří skupinu označenou SPA-.

Popisnou charakteristiku souboru udává tabulka 1.

Zastoupení pohlaví se ve skupině pacientů a ve skupině kontrolní neliší (test dobré shody: $\chi^2 = 0{,}982$; $p = 0{,}322$). Průměrný věk nemocných byl 51,7 let (medián 53 let, minimum 18, maximum 88 roků), ve skupině kontrolní 41,08 let (medián 39 let, minimum 19, maximum 78 let). Ve skupině kontrolní byl tedy věk významně nižší (Mannův-Whitneyův U test; $U = 2732{,}5$ $p < 0{,}001$, obr. 1). Na základě statisticky nevýznamné korelace mezi věkem a hodnotou ProC®global ovšem můžeme tvrdit, že věk neovlivňuje hodnotu testu (ve skupině pacientů: $r_S = 0{,}013$; $p = 0{,}884$; v kontrolní skupině: $r_s = 0{,}043$; $p = 0{,}734$) a tak jsou použité soubory srovnatelné.

Materiál a metodika

Stanovení antifosfolipidových protilátek

Na našem pracovišti používáme pro stanovení inhibitoru LA vícestupňovou diagnostiku navrženou standardizačním výborem Mezinárodní společnosti pro trombózu a hemostázu s ohledem na další modifikace (19, 20). Jako screeningové testy jsou to ředěný aktivovaný parciální tromboplastinový test – PTT-LA (Diagnostica Stago), ředěný test s jedem Russelovy zmije – reagencie Russel viper venom (Diagnostica Stago) a kaolinový čas za použití 2% kaolinové suspenze (Kaolin Diagnostica Stago). V případě pozitivního nálezu ve screeningovém testu je proveden korekční test normální směsnou plazmou. Ve vzorcích, v nichž nedochází ke korekci, je přítomnost inhibitoru ověřena nebo vyloučena konfirmačním testem – neutralizací inhibitoru fosfolipidy trombocytů. U nejednoznačných výsledků je doplněn další konfirmační test s neutralizací fosfolipidy v hexagonální fázi II -Hexagonal Neutralization Procedure (HNP) – Staclot®LA (Diagnostica Stago). Toto diagnostické schéma je od ledna 2002 na našem pracovišti doplněno o použití aPTT s diagnostickým reagens necitlivým k přítomnosti LA (Actin® FS, Dade Behring). Veškeré testy jsou prováděny ze speciálně preanalyticky připravené bezdestičkové plazmy; stejná příprava je použita pro přípravu normální plazmy používané ke směsným studiím. Do studie byli zařazeni pacienti, u nichž byla přítomnost inhibitoru opakovaně ověřena v časovém odstupu 6 a více týdnů.

Stanovení protilátek proti kardiolipinům a proti β_2-glykoproteinu I bylo provedeno mimo naše pracoviště užitím ELISA techniky a pro vyhodnocení výsledků jsme použili škálu doporučenou laboratoří, která výsledky provádí. Ta poskytuje hodnocení pro antikardiolipinové protilátky < 10 U/ml jako negativní, hraniční nález zahrnuje rozmezí 10-19 U/ml, nálezy 20–39 U/ml jako nález slabě pozitivní. Pozitivní nálezy pak zahrnují titry protilátek 40–79 U/ml, hodnoty nad 80 U/ml jsou hodnoceny jako silná pozitivita. Pokud byl průkaz antikardiolipinů izolovaný, tj. bez přítomnosti lupus antikoagulans resp. protilátek proti β_2-glykoproteinu I, pak bylo pro zařazení do studie nutno prokázat opakovaný nález pozitivity ACLA IgM nebo ACLA IgG v titru nejméně 40 U/ml.

Výsledky protilátek proti β_2-glykoproteinu I jsou spolupracující laboratoří vyjadřovány pouze v semikvantitativní škále hodnocení jako negativní, slabě pozitivní, pozitivní a silně pozitivní. Pokud byl průkaz těchto protilátek izolovaný, pak pro zařazení pacienta byl nutný opakovaný průkaz nejméně pozitivního nálezu.

Stanovení Pro®Cglobal

Ke stanovení hodnoty testu ProC®global byla u nemocných bez zavedené antikoagulační léčby warfarinem odebírána venózní krev do plastikových odběro-

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 156
proLékaře.cz | 9.12.2026

vých zkumavek s obsahem 3,8% citronanu sodného v poměru 1:10, centrifugována při 2500 g po 20 minut při pokojové teplotě, šokově zmražena a následně uchovávána v plastikových zásobnících při -70 °C do doby provedení vyšetření. K laboratorní diagnostice byl použit původní kit ProC®global (Dade Behring), stanovení bylo provedeno na koagulačním analyzátoru STA-Compact.

Princip testu: test odráží globální aktivitu systému proteinu C, ke které dochází po aktivaci endogenního proteinu C ve vzorku plazmy po přidání hadího jedu Protac (jed Agkistrodon contortrix). Takto aktivovaný protein C vede k prodloužení aktivovaného parciálního tromboplastinového času (aPTT); z poměru aPTT před a po aktivaci je vypočítán poměr R. Normalizovaný poměr R (NR) je stanoven vynásobením poměru R kalibračním faktorem, který je určen pro každou šarži reagencie. Vyjadřování výsledků v NR snižuje ovlivnění konečných výsledků použitým koagulačním analyzátorem, šarží testu a podobně. Normální hodnoty poměru NR dané firemním nastavením testu jsou > 0,8.

U nemocných, u nichž byla stanovena hodnota, která je považována za patologickou resp. pozitivní tj. méně než 0,8, byla v dalším průběhu doplněna vyšetření, která blíže tuto pozitivitu analyzují – stanovení případné přítomnosti Leidenské mutace FV, deficitu proteinu C, deficitu proteinu S a zvýšené aktivity FVIII.

Stanovení Leidenské mutace FV

Izolace DNA byla provedena standardní metodou, pomocí izolačního kitu „QIA Blood Mini Kit“ firmy Qiagen, umožňující rychlou izolaci DNA z malého množství periferní krve (200 μl) odebrané do odběrových zkumavek obsahující K_3EDTA.

Vlastní průkaz Leidenské mutace FV byl proveden metodou PCR-RFLP, která je založena na amplifikaci známé sekvence genu pomocí dvou specifických primerů (21) FVL1 a FVL2 (Metabion International AG). Výsledkem amplifikace jsou amplikony (PCR produkty o stejné délce), které jsou detekované elektroforeticky na agarózovém gelu, po předchozím enzymatickém štěpení pomocí restrikčních endonukleáz (Promega Corporation) za specifických podmínek.

Stanovení aktivity proteinu C a proteinu S

Venózní krev odebraná do plastikových zkumavek s obsahem citronanu sodného v poměru 1:10 byla centrifugována po 15 minut při 2500 g, šokově zmražena a uchována při -70 °C do doby vyšetření. Aktivita proteinu C byla stanovena za pomoci reagenčního setu STA Staclot Protein C (Diagnostica Stago) na koagulačním analyzátoru STA-Compact nebo analyzátoru STA-R. Aktivita proteinu S byla stanovena za stejných podmínek pomocí reagenčního setu STA Staclot Protein S (Diagnostica Stago).

Stanovení aktivity FVIII

Venózní krev odebraná do plastikových zkumavek s obsahem citronanu sodného v poměru 1:10 byla centrifugována po 15 minut při 2500 g, šokově zmražena a uchovávána do doby vyšetření při -20 °C do doby vyšetření (ne déle než 4 týdny). Aktivita faktoru VIII byla stanovena standardní metodikou zavedenou na pracovišti v ředění plazmy 1:20 resp. podle zjištěné hodnoty i v ředění 1:40 event. i 1:80 k zabezpečení přesného odečtu vysokých hodnot aktivity. Stanovení bylo provedeno na koagulačním analyzátoru STA Compact nebo STA-R za použití diagnostik PTT-Automete 10 (Diagnostica Stago), FVIII deficitní plazmy DG-FVIII (Grifols s.r.o), STA Unicalibrator (Diagnostica Stago) a STA System Control N+P (Diagnostica Stago).

Statistické zpracování

Ke srovnání hodnot ProC®global mezi pacienty a kontrolní skupinou byl vzhledem k normalitě rozložení hodnot ProC®global použit t-test. T-test byl rovněž použit ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s manifestací žilní trombózy a pacientů bez této manifestace, ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s manifestací arteriální trombózy a pacientů bez této manifestace, dále pak ke srovnání hodnot ProC®global u pacientek, které měly samovolný potrat a pacientek bez samovolného potratu. Podobně byl t-test použit ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s lupus antikoagulans a bez lupus antikoagulans, také ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s přítomností antikardiolipinových protilátek a bez těchto protilátek. T-test byl použit také ke srovnání hodnot ProC®global mezi muži a ženami a to jak u souboru pacientů tak i v kontrolní skupině a dále ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s klinickou manifestací trombózy a bez této manifestace. Toto srovnání bylo provedeno zvlášť pro muže a zvlášť pro ženy. U pacientů s hodnotou ProC®global nižší než 0,8 byl ke srovnání hodnot ProC®global mezi pacienty s Leidenskou mutací FV a pacienty bez Leidenské mutace použit také t-test.

Ke srovnání hodnot ProC®global u pacientů s přítomností pozitivity, slabé pozitivity a nepřítomnosti protilátek proti β_2-glykoproteinu I byla použita analýza rozptylu. Analýza rozptylu byla použita také ke srovnání hodnot ProC®global mezi pacienty s přítomností/nepřítomností Leidenské mutace a jiného koagulačního nálezu. K určení významnosti rozdílů mezi jednotlivými skupinami byl dále použit Fisherův LSD test.

ROC analýza byla použita k určení takové hodnoty ProC®global, která nejlépe rozliší pacienty s žilní a/nebo arteriální trombózou a pacienty bez manifestace trombózy. Diskriminační hodnota testu ProC®global byla určena zvlášť pro muže a zvlášť pro ženy.

Závislost manifestace trombózy na hodnotě ProC®global vzhledem ke hraniční hodnotě určené ROC analýzou byla sledována pomocí testu dobré shody.

Výsledky

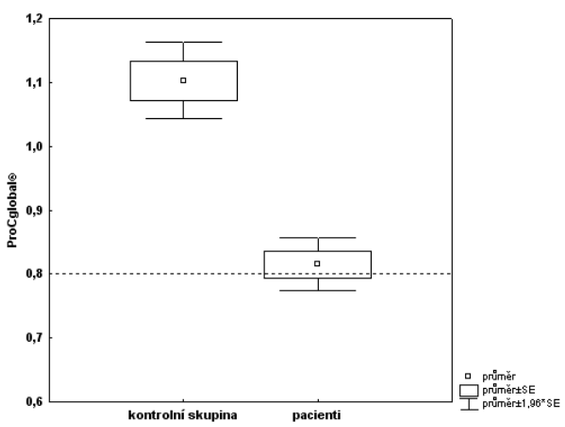
Hodnota ProC®global se statisticky významně lišila mezi skupinou pacientů a skupinou kontrolní (t-test, $p < 0,001$). Při analýze jednotlivých skupin nemocných lze zjistit statisticky významný rozdíl v hodnotě testu při srov-

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 157
proLékaře.cz | 9.12.2026

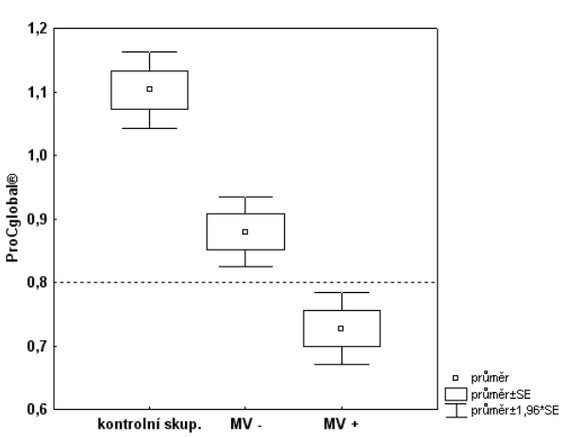
Tab. 2. Hodnoty NR testu ProC®global v jednotlivých skupinách.

		ProC®global				ProC®global		t-test		
skupina	N	průměr	sm.od.	skupina	N	průměr	sm.od.	t	df	p
kontrola	64	1,10	0,25	pacienti	126	0,82	0,24	-7,767	188	<0,001
kontrola										
K - ženy	38	1,13	0,27	k - muži	26	1,06	0,20	1,149	62	0,255
pacienti										
P - ženy	84	0,85	0,24	p - muži	42	0,76	0,23	1,994	124	0,048
MV-	73	0,88	0,24	MV+	53	0,73	0,21	3,691	124	<0,001
MA-	96	0,83	0,23	MA+	30	0,78	0,26	-0,821	124	0,413
SPA-	65	0,85	0,24	SPA+	19	0,83	0,23	0,344	82	0,732
LA-	17	0,91	0,24	LA+	109	0,80	0,24	-1,747	124	0,083
ACLA-	43	0,85	0,25	ACLA+	80	0,81	0,24	-0,913	121	0,363

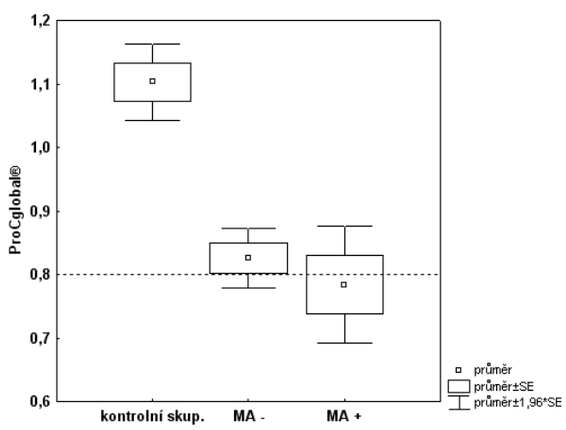
Vysvětlivky: sm. od. = směrodatná odchylka



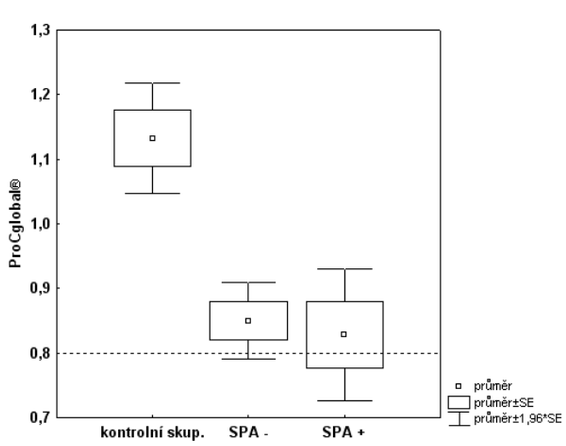
Obr. 2. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami.



Obr. 3. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami bez klinické manifestace žilní trombózou (MV-) a u nemocných s touto klinickou manifestací (MV+) .



Obr. 4. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami bez klinické manifestace arteriální trombózou (MA-) a u nemocných s touto klinickou manifestací (MA+).



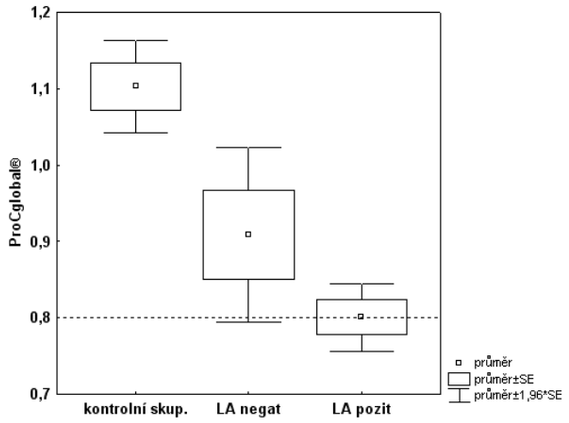
Obr. 5. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u pacientek s antifosfolipidovými protilátkami bez prodělané ztráty plodu (SPA-) a u nemocných s touto klinickou manifestací (SPA+).

nání skupiny nemocných s žilní trombózou a skupiny bez této manifestace (skupiny MV+ a MV-, t-test, $p < 0,001$), rozdíl však nebyl zjištěn při klinické manifestaci arteriální trombózy (skupiny MA+ a MA-, t-test, $p = 0,413$) a samovolné ztráty plodu (t-test, $p = 0,732$). Výsledky hodnoty NR testu ProC®global shrnuje tabulka 2 a obrázky 2–5.

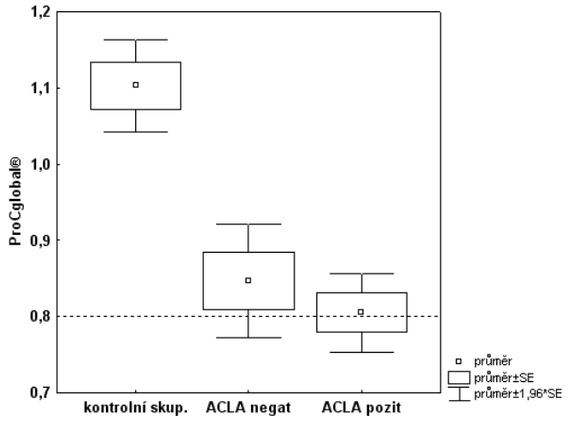
Hodnota ProC®global se zdála být více ovlivněna přítomností lupus antikoagulans, ale ani zde nedosáhl rozdíl statistické významnosti (t-test, $p = 0,083$). Také při srovnání pacientů s přítomností antikardiolipinových protilátek a nemocných bez tohoto nálezu, nebyla hodnota NR ProC®global testu odlišná (t-test, $p = 0,363$). Stejně tak přítomnost pozitivity, slabé pozitivity, případně nepřítomnost protilátek proti β_2-glykoproteinu I neovlivňovala hodnotu testu se statistickou významnosti (ANOVA; $F = 0,157$; $df_1 = 2$; $df_2 = 80$; $p = 0,855$).

Hodnoty ProC®global v přítomnosti či nepřítomnosti jednotlivých typů antifosfolipidových protilátek shrnuje tabulka 2 a obr. 6–8).

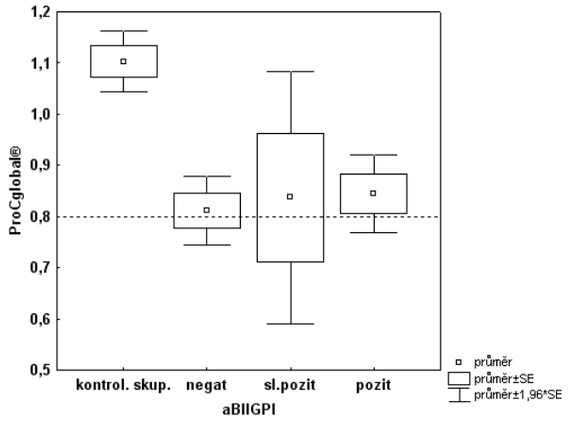
zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 158
proLékaře.cz | 9.12.2026



Obr. 6. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u nemocných s lupus antikoagulans a bez tohoto laboratorního nálezu.



Obr. 7. Hodnota ProC®global ve skupině kontrolní a u nemocných s nálezem silné a střední pozitivity antikardiolipinových protilátek a bez tohoto laboratorního nálezu.



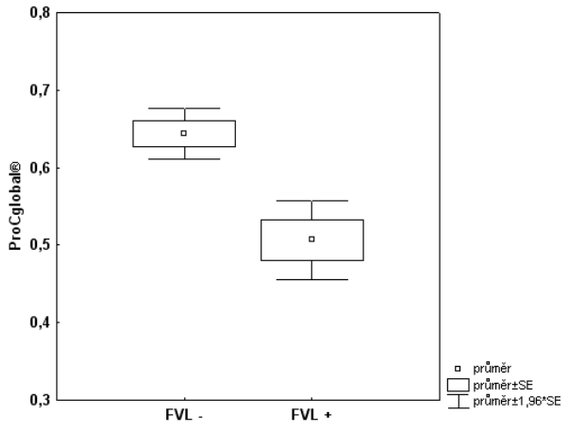
Obr. 8. Hodnota ProC®global v kontrolní skupině a u nemocných při různé pozitivitě protilátek proti bbb_2-glykoproteinu I.

Při bližší analýze příčin poklesu ProC®global na hodnotu 0,8 NR a méně jsme vyšetřili 59 nemocných na přítomnost Leidenské mutace FV (FVL+), deficit proteinu C resp. S a zvýšení aktivity FVIII nad 150 % (pro potřeby další analýzy byly tyto tři odchylky zahrnuty do skupiny ostatní).

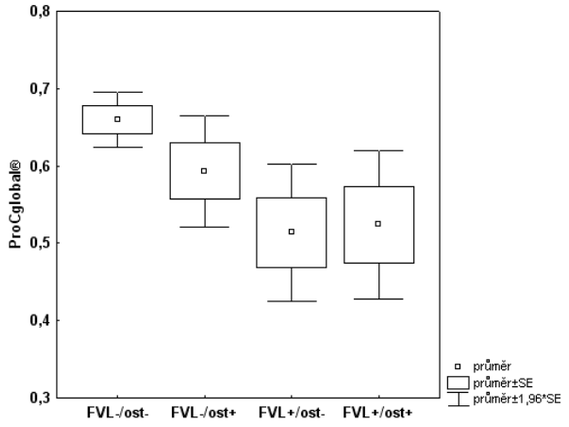
V tomto vyšetřování jsme zjistili u 13 nemocných

Tab. 3. Hodnoty NR při pozitivním nálezu ProC®global testu v jednotlivých skupinách.

Skupina	N	ProC®global průměr	ProC®global sm. odch.
FVL -	46	0,64	0,11
FVL +	13	0,51	0,09
FVL +/ostatní -	5	0,51	0,10
FVL +/ostatní +	5	0,52	0,10
FVL -/ostatní -	32	0,66	0,10
FVL -/ostatní +	12	0,59	0,13



Obr. 9. Hodnota ProC®global s NR < 0,8 u pacientů bez Leidenské mutace FV a s touto vrozenou trombofilií.

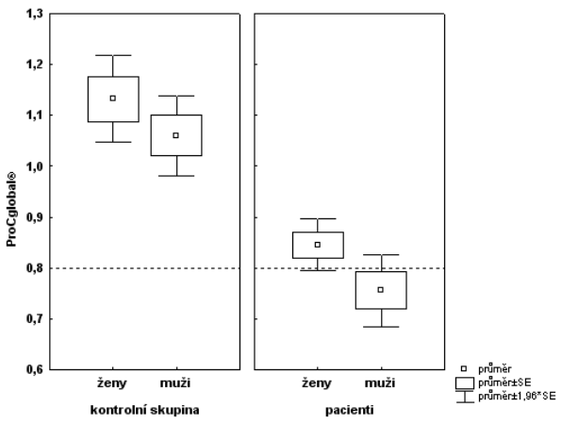


Obr. 10. Hodnota ProC®global s NR < 0,8 podle příčiny.

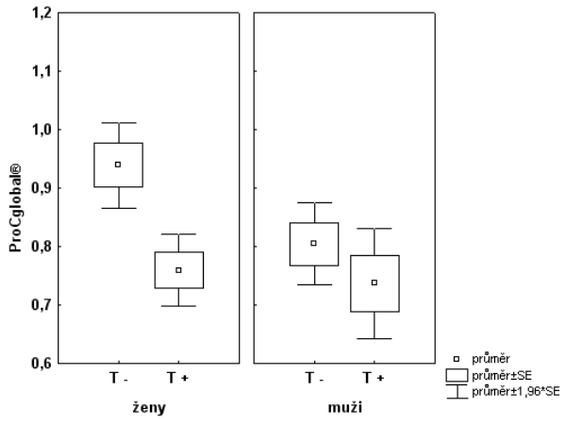
nález Leidenské mutace FV, všechny v heterozygotní formě. V 17 případech pak byly nalezeny další koagulační odchylky – 4krát kombinovaná odchylka se zvýšením aktivity FVIII nad 150 % a snížením proteinu S, 8x snížení proteinu S, 4krát zvýšení aktivity FVIII a jednou kombinace deficitu proteinu S, deficitu proteinu C a zvýšení aktivity FVIII. Změny, které byly nalezeny, byly spíše méně významné – nejvyšší dosažená hodnota FVIII byla 282 %, nejnižší zjištěná aktivita proteinu S dosahovala 50 %. Jediný deficit proteinu C v kombinaci s jinými faktory byl 69 %. U pěti nemocných byla přítomnost Leidenské mutace kombinována s jiným koagulačním nálezem.

Hodnoty ProC®global v jednotlivých skupinách blíže určených nemocných shrnuje tabulka 3. U tří nemocných s pozitivním nálezem ProC®global bylo provedeno

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 159
proLékaře.cz | 9.12.2026



Obr. 11. Porovnání průměrné hodnoty ProC®global v obou skupinách (kontrolní a pacienti s antifosfolipidovými protilátkami) podle pohlaví.



Obr. 12. Průměrná hodnota ProC®global ve skupině pacientů s antifosfolipidovými protilátkami podle pohlaví a klinické manifestace trombózy (T- bez trombózy v žilním a arteriálním řečišti, T+ s trombózou v žilním a/nebo v arteriálním řečišti).

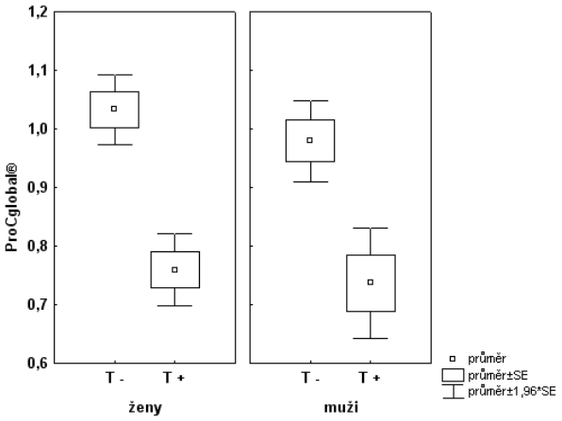
Tab. 4. Hodnoty NR ProC®global ve vztahu ke klinické manifestaci žilní nebo tepenné trombózy.

		ProC®global				ProC®global		t-test		
skupina	N	průměr	sm.od.	skupina	N	průměr	sm.od.	t	df	p
pacienti s antifosfolipidovými protilátkami										
ženy T-	40	0,94	0,24	ženy T+	44	0,76	0,21	-3,713	82	<0,001
muži T-	12	0,80	0,12	muži T+	38	0,74	0,27	-0,843	40	0,404
celý vyšetřený soubor (včetně kontrol)										
ženy T-	78	1,03	0,27	ženy T+	44	0,76	0,21	-5,837	120	<0,001
muži T-	38	0,98	0,22	muži T+	30	0,74	0,27	-4,157	66	<0,001

Vysvětlivky: sm. od. = směrodatná odchylka

Tab. 5. Počet žen a mužů podle kritické hodnoty ProC®global.

počet žen s hodnotou ProC®global		počet mužů s hodnotou ProC®global			
	do 0,8 NR	nad 0,8 NR		do 0,71 NR	nad 0,71 NR
ženy T-	10	30	muži T-	2	10
ženy T+	25	19	muži T+	19	11



Obr. 13. Průměrná hodnota ProC®global v celém vyšetřené souboru podle pohlaví a klinické manifestace trombózy (T- bez trombózy v žilním a arteriálním řečišti, T+ s trombózou v žilním a/nebo v arteriálním řečišti).

pouze stanovení Leidenské mutace FV, zatímco koagulační faktory vyšetřeny nebyly.

Porovnání hodnot ProC®global se statisticky významně liší při srovnání nemocných, kteří kromě přítomnosti antifosfolipidových protilátek případně dalších koagulačních odchylek s trombofilní tendencí byli současně nositeli Leidenské mutace FV a těch, kteří tuto vrozenou náchylnost neměli (t-test; t = 4,033; df = 57; p < 0,001, obr. 9).

Hodnoty ProC®global se mezi pacienty s výskytem Leidenské mutace a/nebo jiným koagulačním nálezem lišily (ANOVA, F = 4,466; $df_1 = 3$, $df_2 = 50$; p = 0,007; obr. 10). Pomocí Fisherova LSD testu byl statisticky významný rozdíl zjištěn mezi skupinou pacientů FVL-/ostatní- a skupinou FVL+/ostatní- a také skupinou FVL+/ostatní+. Z toho plyne, že s pozitivitou FVL se hodnota ProC®global snižuje. Tento nález se odráží i v klinické manifestaci – pouze jeden ze třinácti nositelů Leidenské mutace se současnou přítomností antifosfolipidových protilátek neměl žádnou trombotickou komplikaci tj. 7,69 % v porovnání 53 (tj. 41,73 %) pacienty s APA bez trombotické manifestace v celém souboru pacientů. Pozitivita dalších koagulačních odchylek nemá na snižování ProC®global statisticky významný vliv.

Hodnota testu se však v námi vyšetřovaných souborech lišila i dle pohlaví (tab. 2), a to se statistickou významností ve skupině pacientů s antifosfolipidovými protilátkami (t-test, p = 0,048). Podobně ve skupině kon-

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 160
proLékaře.cz | 9.12.2026

trolní lze vysledovat tento trend, ale zřejmě díky menšímu počtu probandů nebylo statistické významnosti dosaženo (t-test, p = 0,255). Rozdíly ukazuje obrázek 11.

Při analýze vztahu hodnoty ProC®global a klinické manifestaci trombózy u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami jsme zjistili statisticky významný rozdíl u žen, které prodělaly žilní či arteriální trombotickou komplikaci (T+) ve srovnání se skupinou žen, které žádnou klinickou manifestaci trombózy neměly (T-) (t-test, p < 0,001). Tento rozdíl však nebyl zjištěn u mužů (t-test, p = 0,404), zřejmě díky malému počtu mužů bez klinické manifestace arteriální či venózní trombózy v této skupině. Je-li toto porovnání provedeno v celém vyšetřovaném souboru, je statisticky významného rozdílu dosaženo v obou pohlavích (t-test, v obou případech p < 0,001). Výsledky shrnuje tabulka 4, obrázky 12 a 13.

Pomocí ROC analýzy jsme se u obou pohlaví pokusili nastavit diskriminační hodnotu testu ProC®global tak, aby byla schopna predikce manifestace trombózy. Toto stanovení je smysluplné pouze na celém souboru, protože u mužů není rozdíl v hodnotách statisticky významný mezi T+ a T- pacienty. Pro skupinu žen se jako nejlepší jeví hraniční hodnota 0,80 NR, při které je 76 % případů klinické manifestace trombózy správně zařazeno. Ve skupině mužů byla určena hraniční hodnota 0,71 NR, při které je 81 % případů klinické manifestace trombózy správně zařazených.

Ve skupině žen s ProC®global do 0,8 byl zaznamenán 1,8krát vyšší výskyt trombózy ve srovnání se ženami s ProC®global nad 0,8 (tab. 5). Ve skupině mužů s ProC®global do 0,71 byl zjištěn 1,7krát vyšší výskyt trombózy ve srovnání s muži s ProC®global nad 0,71 (tab. 5). U žen i u mužů byla potvrzena závislost výskytu trombózy na hodnotě ProC®global vzhledem ke hraniční hodnotě určené ROC analýzou (test dobré shody; ženy: $\chi^2 = 8,727$; df = 1; p = 0,003; muži: $\chi^2 = 7,467$; df = 1; p = 0,006).

Diskuse

ProC®global se jeví jako jednoduchý screeningový test, který je schopen predikovat náchylnost zejména k žilnímu trombembolismu v různých situacích. Více prací dokladuje, že jeho patologická hodnota může být po vyloučení dalších trombofilních dispozic nezávislým rizikovým faktorem žilní trombózy (22, 23).

V naší práci jsme u pacientů s antifosfolipidovými protilátkami nalezli nižší hodnoty testu ProC®global nežli v kontrolní skupině zdravých jedinců bez těchto autoprotilátek. S poklesem této hodnoty navíc narůstala četnost případů klinické manifestace žilní trombózy. Hodnota testu byla současně významně ovlivněna přítomností Leidenské mutace faktoru včetně klinické manifestace. V souhlase s jinými nálezy (24) je i podle našich výsledků přítomnost Leidenské mutace významným přídatným rizikovým faktorem u osob s pozitivním průkazem antifosfolipidových protilátek. Protože ProC®global je považován za test s vysokou senzitivitou k odhalení přítomnosti této vrozené trombofilie (22, 25), lze předpokládat, že pokles jeho hodnoty upozorní i na riziko možnosti takto kombinované trombofilie.

Přítomnost jiných odchylek krevního srážení ovlivňujících hodnotu ProC®global tj. deficity proteinu C, proteinu S, případně zvýšení aktivity FVIII byla prokázána v 17 nálezech. Hodnota testu v těchto případech však již nebyla statisticky významně nižší ve srovnání se 32 případy, kdy kromě přítomnosti antifosfolipidových protilátek nebyla zjištěna jiná koagulační odchylka a také zastoupení trombotických komplikací nebylo významně vyšší. Zjištěné změny zřejmě druhotně odráží jak vliv vlastních APA na systém krevního srážení, ale stejně tak je možný i vliv základního onemocnění, které tvorbu APA indukuje (zánětlivé či nádorové procesy). Těmito faktory navozené sekundární změny koagulace již dle našich výsledků riziko trombózy dále nezvyšují a jednoznačný vrozený deficit přirozených inhibitorů krevního srážení v našem souboru prokázán nebyl.

Nález závislosti hodnoty ProC®global na pohlaví ve skupině nemocných byl spíše překvapivý, i když o trendu nižších hodnot u mužů bylo již referováno v práci Matýškové 2001 (25). Zde však na souboru 565 osob s trombofilií nenabyl rozdíl statistické významnosti (p = 0,275) při průměrných hodnotách 0,80 zjištěných u mužů a 0,82 zjištěných u žen. Statisticky významný rozdíl mezi ženami a muži ve skupině nemocných nás vedl k rozdílnému nastavení „cut-off" hodnoty, která v jednotlivých skupinách predikuje riziko trombózy. U žen se tato hodnota rovnala firemně nastavené tj. 0,8 NR, zatímco u mužů námi zjištěná hodnota schopná predikovat riziko trombózy je 0,71 NR.

Vzhledem k tomu, že pokles hodnoty ProC®global je spojen s významně vyšším rizikem žilní trombózy u nemocných s antifosfolipidovými protilátkami, že test s vysokou citlivostí zachycuje přítomnost Leidenské mutace FV, že odráží vliv sekundárních změn koagulačního systému (deficity C, S a zvýšení FVIII) i blíže neurčený zásah antifosfolipidvých protilátek do krevního srážení, jeví se tento test jako výhodné screeningové vyšetření v této skupině nemocných.

Literatura

1. **de Groot PG, Horbach DA, Derksen RHWM.** Protein C and other cofactor involved in the binding od antiphospholipid antibodies: relation to the pathogenesis od thrombosis. Lupus 1996; 5: 488–493.
2. **Esmon LN, Smirnov MD, Esmon CHT.** Thrombogenic mechanisms of antiphospholipid antiodies. Thromb Haemost 1997; 78: 79–82.
3. **Parke AL, Weinstein RE, Bona RD, et al.** The thrombotic diathesis associated with the presence of phospholipid antibodies may be due to low levels of free protein S. Am J Med 1992; 93: 49–56.
4. **Oostin JD, Derksen RHWM, Bobbink IWG, et al.** Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phoshopholipids with prothrombin, protein C, or protein S: An explanation for their pathogenetic mechanisms? Blood 1993; 81: 2618–2625.

zlom transfuze 4 14.12.2005 11:55 Stránka 161
proLékaře.cz | 9.12.2026

5. **Ames PRJ, Tommasino C, Iannaccone L, et al.** Coagulation activation and fibrinolytic imbalance in subjects with idiopathc antiphospholipid antibodies. A crucial role for aquired free protein S deficienty. Tromb Haemost 1996; 76: 190–194.
6. **Mori T, Takeya H, Nishioka M, et al.** β_2-glycoprotein I modulates the anticoagulant activity of activated protein C on the phospholipid surface. Thromb Haemost 1996; 75: 49–55.
7. **Kraus M, Noah M, Fickenscher K.** The PCAT – a simple screening assay for assessing the functionality of the protein C anticoagulant pathway. Thromb Res 1995; 80: 217–222.
8. **Kraus M, Zadner M, Fickenscher K.** Coagulation assay with improved specificity to factor V mutants insensitive to activated protein C. Thromb Res 1995; 80: 255–264.
9. **Kemkes-Matthes B, Matzdorff A, Niemann F.** Differentialdiagnostik zur Beurteilung des Thromboserisikos mit ProC®global. Hamostaseologie 1999; 19: 153–156.
10. **Siegemund A, Vorberg B, Siegemund T, et al.** Einsatz des ProC®global-Test zum Thrombophisiescreening. Hamostaseologie 1999; 19: 157–167.
11. **Galli M, Finazzi G, Norbis F, et al.** The risk of thrombosis in patient with lupus anticoagulants is predicted by their specific coagulation profile. Thromb Haemost 1999; 81: 695–700.
12. **Pengo V, Biastiolo A, Rampazzo P, Brocco T.** dRVVT is more sensitive than KCT or TTI for detecting lupus anticoagulant activity of anti-β_2-glycoprotein I autoantibodies. Thromb Haemost 1999; 81: 258–258.
13. **Galli M, Dlott J, Norbis F, et al.** Lupus anticoagulants and thrombosis: clinical association of different coagulation and immunologic tests. Thromb Haemost 2000; 84: 1012–1016.
14. **Buliková A, Matýšková M, Dušek L, et al.** Význam screeningových testů pro diagnostiku lupus antikoagulans. Hematológia a transfuziológia 2000; 10: 102–111.
15. **Galli M, Beretta G, Daldossi M, et al.** Kaolin clotting time and dilute Russel's viper venom time distinguish between prothrombin-dependent and β_2-glycoprotein I dependent antiphospholipid antibodies. Blood 1995; 86: 617–623.
16. **Ruggeri L, Barbui T, Galli M.** Acquired resistance to activated protein C due to specific subset of lupus anticoagulants: Evaluation by means of ProC®global test. Thromb Haemost 1999; Suppl.: 102–103.
17. **Buliková A, Matýšková M, Zavřelová J, et al.** Stanovení rizika trombózy u osob s pozitivními antifosfolipidovými protilátkami. Závěrečná zpráva grantu č. IZ/4263–3 IGA Ministerstva zdravotnictví ČR.
18. **Buliková A, Penka M, Zavřelová J, et al.** Protein C pathway abnormalities in patients with antiphospholipid antibodies. Thrombophilia and atherothrombosis 2001; lectures and abstracts: 58.
19. **Brandt JT, Barma LK, Triplett DA, et al.** Laboratory identification of lupus anticoagulants. Thromb Haemost 1995; 74: 1597–1603.
20. **Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al.** International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheumat 1999; 42: 1309–1311.
21. **Janků L, Bartoníčková A.** Rizikový faktor trombózy – bodová mutace G1691A v genu faktoru V a její prevalence v České republice. Hematológia a trasfuziológia 2000; 2: 91–95.
22. **Rosendaal FR, van der Meer FJM, Visser TH, et al.** ProC Global screening test and risk of thrombosis. Thromb Haemost 1999; 82 (Suppl): 731.
23. **Grand'Maison A, Bates SM, Johnston M, et al.** „ProC Global": A functional screening test that predicts recurrenct venous thrombembolism. Thromb Haemost 2005; 93: 600–604.
24. **Galli M, Finazzi G, Duca F, et al.** The G1691→ A mutation of factor V, but not the G20210→ A mutation of factor II or the C677→ T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase genes, is associated with venous thrombosis in patients with lupus anticoagulanst. Brithish J Haematol 2000; 108: 865–870.
25. **Matýšková M, Zavřelová J, Méhešová M.** ProC®Global - laboratorní screeningový test pro trombofilii. Praktický lékař 2001; 12: 697–700.

MUDr. A. Buliková
Oddělení klinické hematologie
Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
abulik@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 27. 7. 2005
Přijato: 14. 10. 2005

Errata

V článku Za profesorem MUDr. Mikulášem, 2005, 11(3): 133-134 bylo uvedeno, že prof. MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc. se narodil v Jihlavě. Jeho rodným městem je Ilava na Slovensku. Čtenářům se omlouváme.

Prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc.