

Vážené kolegyně a kolegové,

v dnešním čísle Laboratorních listů vám přinášíme podrobné informace o antitrombinu.

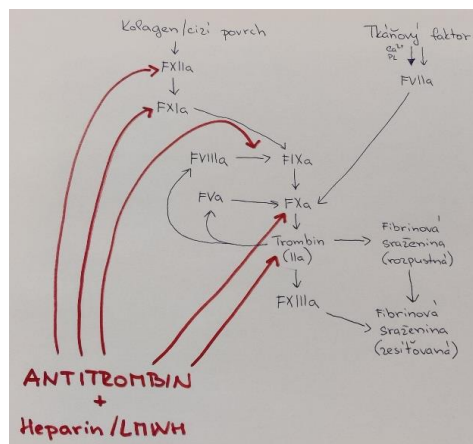
ANTITROMBIN

Antitrombin (AT) je nejdůležitější inhibitor koagulační kaskády. Patří do skupiny inhibitorů **serinových proteáz**. Jeho vrozené i získané defekty jsou spojeny s nejvyšším rizikem hyperkoagulací. Syntetizovaný je z větší části v játrech a působí na povrchu endoteliálních buněk.

Jedná se o jednořetězcový plasmatický glykoprotein o 432 aminokyselinách s molekulovou hmotností 58 kDa. V organismu se vyskytuje ve dvou formách s odlišným stupněm glykosylace. **α forma** má 4 oligosacharidové řetězce a **β forma** je složena ze 3 oligosacharidových řetězců a vykazuje vyšší afinitu k heparinu. Antitrombin má terciární strukturu proteinu díky třem disulfidovým můstkům.

Antitrombin patří mezi **serpiny**. Váže se na GAG (glykosaminoglykanový) film endotelií, kde působí **protizánětlivě**. Po vazbě na GAG dochází ke konformační změně molekuly a k aceleraci reakce se serinovými proteínázami. Uvádí se, že **inhibice** trombinu se urychlí až 100 000krát a faktoru Xa asi 3500krát. Pro **urychlení** reakce antitrombinu s trombinem musí molekula GAG obsahovat nejméně 18 cukerných jednotek. GAG se na molekulu AT váže na specifické vazebné místo a molekuly GAG musí obsahovat specifickou pentasacharidovou sekvenci. Hepariny pak představují směs makromolekul o různé molekulové hmotnosti, které se navíc liší obsahem pentasacharidových sekvencí, a tím i afinitou k AT. Samotný pentasacharid urychluje pouze reakci AT s faktorem Xa a je pro možnou výraznou redukci krvácivých komplikací předmětem intenzivního klinického výzkumu.

Víc než 80 % **inhibiční aktivity** AT je namířeno proti trombinu a formaci fibrinu, faktoru IXa a faktoru Xa. Působí i proti faktoru XIa, faktoru XIIa, HMWK a plazminu. Není schopný samostatně vázat faktor VII, ale inhibuje aktivitu komplexu TF-FVII.



Plasmatický AT je možné stanovit **chromogenními**

metodami, které slouží ke stanovení funkční amidolytické aktivity AT. Chromogenní metody jsou přesné, správné, reprodukovatelné a automatizované.

Potřebujete kontakt přímo
na odběrové místo, ambulanci,
nebo laboratoř?

Veškeré kontakty naleznete na

www.labin.cz



V současné době jsou dostupné **3 typy chromogenních metod** na stanovení amidolytické aktivity AT podle použitého substrátu (lidský faktor IIa, hovězí faktor IIa a hovězí faktor Xa). Vyšetřovaná plasma je po ředění fyziologickým roztokem inkubována s nadbytkem substrátu (faktor IIa nebo faktor Xa) za přítomnosti heparinu, který signifikantně zvyšuje inhibiční aktivitu AT. Při stanovení AT se využívají jeho schopnosti vytvářet v přítomnosti heparinu stechiometrické ireverzibilní komplexy se serinovými proteázami, především trombinem (IIa), ale i faktorem Xa. Následuje **stanovení množství zbytkového trombinu** (či faktoru Xa) přidáním specifického chromogenního substrátu, kdy je trombinem štěpen p-nitroanilin a dojde k barevné změně. Změna absorbance je měřena fotometricky při 405 nm na spektrofotometru. Intenzita zbarvení je přímo úměrná množství zbytkového trombinu a nepřímo úměrná množství AT ve vzorku.

Dále se dá stanovit **imunologickými metodami** na stanovení antigenu AT na principu reakce antigen protilátka (ELISA), raketovou imunoelektroforézou, radiální imunodifúzí či imunoturbidimetrickými metodami.

Výsledky vyšetření aktivity AT a antigenu AT se vyjadřují v jedninách, % normálu nebo v mezinárodních jednotkách IU / ml. Kdy referenční rozmezí je pro novorozence 0,6 – 0,8 (60–80 %) a pro děti a dospělé 0,8 – 1,20 (80–120 %). **Falešně vysoké** hodnoty se mohou vyskytnout v případě vysokých hladin heparinového kofaktoru II. **Falešně nižší** hodnoty aktivity AT jsou popsány u pacientů léčených L-asparaginazou. Vyšetření aktivity AT je ovlivněné i zvýšenými hodnotami hemoglobinu, bilirubinu, a triacylglyceridů v plazmě. Klinický význam má **snížení inhibiční aktivity**, který představuje 5 - 50násobně zvýšené riziko tromboembolismu. Příčinou jsou defekty jak vrozené, tak získané – snížená syntéza (jaterní onemocnění), zvýšené ztráty (nefrotický syndrom), zvýšená spotřeba (DIC, TEN, rozsáhlé operace) a jiné (těhotenství). Zvýšení inhibiční aktivity nemá klinický význam.

Nedostatek AT u nemocného se sklonem k trombóze popsal poprvé roku 1965 Olav Egeberg. Jde o onemocnění autozomálně dominantně dědičné s prevalencí 0,2 – 0,5 na 1000 obyvatel. Gen kódující AT (SERPINC1) je lokalizovaný na chromozómu 1 (q23-25). Homozygotní postižení bylo popsáno jen u defektů s nedostatečnou vazbou na heparin, u ostatních je neslučitelné se životem. **Klinicky** se tento defekt projevuje trombózami hlubokých žil hlavně dolních končetin a plicní embolií, eventuálně atypickou lokalizací trombóz. První manifestace bývají v období puberty, obvykle bez zjevné příčiny nebo po lehčím úraze či větší fyzické námaze. U žen se s prvními projevy setkáváme často v těhotenství a šestinedělí. Asi 65 % nositelů defektu AT má první projevy trombózy ve věku mezi 10–35 lety, kdy základní koagulační vyšetření je většinou v normě. Při akutních příhodách se podávají koncentráty AT současně s heparinem, dlouhodobě je při výskytu trombóz potom na místě podávání kumarinových derivátů (warfarin).

