


Yeni Hemostaz İlaçların Takibinde Kullanılan Laboratuvar Testleri

DR RAFİYE ÇİFTÇİLER


HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HEMATOLOJİ BİLİM DALI



Geleneksel (konvansiyonel, standard, rutin)
ve yeni global koagülasyon testleri

Koagülasyonda Otomatizasyon

- ▶ Koagülasyon testleri son 50 yılda dramatik olarak deęiřti.
- ▶ 1950, 1960'larda, hatta 1970'lerde testler manuel, test sonuçları yapan kişiye bağımlı iken,

- 
- ▶ Daha sonra, testleri standardize ve optimize etmek için, küçük pıhtı oluşumunu tayin edebilen fotometrik yöntemler geliştirildi.
 - ▶ Zamanla aletler gelişti, büyüdü ve genişledi, immünolojik testlerle birlikte, fotometrik olarak yapılmaya başlandı.

Geleneksel testler

- ▶ Özellikle, intrinsek pıhtılaşma yolağında yer alan faktörleri kabaca değerlendiren “pıhtılaşma zamanı”
- ▶ Protrombin zamanı (PT),
- ▶ INR (international normalized ratio)
- ▶ Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT)
- ▶ Trombin zamanı (TT), fibrinojen

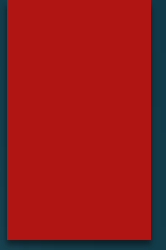
Pıhtılaşma Faktör Düzeyleri Ölçümü


- ▶ Tek aşamalı (one-stage), iki aşamalı (two-stage) ya da kromojenik yöntemlerle.
- ▶ En çok, tek aşamalı ölçüm kullanılır.

Pıhtılaşma Faktör Düzeyleri Ölçümü

- ▶ Tek aşamalı “One-stage” pıhtılaşma testleri: Pıhtı için gereken zamanın faktör aktivitesine bağımlı olduğu varsayılarak yapılan testtir. Ölçülecek faktör tek değişkendir ve “deficient” plazmadaki tüm diğer faktörler normal düzeydedir.
- ▶ “Two-stage” kromojenik ölçümle replase olmuştur, çünkü ikisinin de benzer karakteristikleri vardır. Bu yöntemi otomatize etmek zordur, ticari reaktifleri yoktur.
- ▶ Kromojenik ölçüm “One stage” ile karşılaştırıldığında kromojenik ölçüm pıhtılaşmaya- spesifik reaktiflerden etkilenmez ve ağır tip faktör eksikliklerini daha doğru olarak saptayabilir.

YENİ GLOBAL KOAGÜLASYON TESTLERİ



- 
- ▶ Tromboz ve kanamanın, morbidite ve mortaliteye majör etkisi vardır.
 - ▶ Geleneksel laboratuvar testleri hastaların zamanında tanı ve tedavisi için genellikle yeterli bilgi vermezler, global hemostaz testleri ise bu durumu düzeltebilir.

Yeni Koagülasyon Testleri

- ▶ Pıhtı oluşumunu ölçen, tromboelastografi (TEG/ROTEM): Viskoelastik testler olarak bilinir, transfüzyon gereksinimini ve maliyeti azaltarak akut kanama tedavisinde iyileşme sağlayabilmektedir.
- ▶ Sürekli trombin üretimini ölçen trombin jenerasyon (üretim) testleri, tromboz için bir gösterge olarak kullanılabilir, ancak, aynı zamanda kanama yönetiminde de önemli rolü olabilir.
- ▶ APTT waveform (dalga şekli) analizi: DIC'nin erken tanısında, hemofili hastalarının tanısında ve tedavi monitorizasyonunda ve sepsis hastalarını evrelemede az sayıda hastada kullanıma girmiştir.

KOAGÜLASYONUN VİSKOELASTİK ÖLÇÜMÜ/ TEG ölçümleri

- ▶ Konvansiyonel TEG ve modifiye TEG (ROTEM) analizleri ile yapılmaktadır.
- ▶ Konvansiyonel TEG analizi ile hemostatik sistemin sadece global olarak değerlendirilmesi yapılabilmektedir.
- ▶ Modifiye TEG analizi (ROTEM) ise kana bazı reaktif maddelerin eklenmesi ile yapılır

TEG/ROTEM

- ▶ Bu testler bir küvette herhangi bir akım olmadan, statik koşullar altında koagülasyonu  l er.
- ▶ Bu nedenle, sonuçlar klinik durumlarla korele olarak dikkatle deęerlendirilmelidir.
- ▶ Tromboelastografi (TEG®), rotasyon tromboelastometrisi (ROTEM®) ve Sonoclot® kardiyak cerrahi, travma, hepatobiliyer cerrahi ve obstetrikte kullanılan başlıca viskoelastik testlerdir.

Tromboelastografi (TEG)

- ▶ Pıhtı oluşumu, maksimum pıhtı sertliği ve fibrinolizisi, tam kan örneğinde in vitro değerlendirmeyi sağlayan bir methoddur.
- ▶ TEG ® pıhtı oluşumu ve rezolüsyonunun tüm evreleri boyunca viskozitede oluşan değişiklikleri analiz eder ve grafiksel olarak ortaya koyar. Bu durum, ilk fibrin oluşum zamanını son nokta olarak alan diğer koagülasyon testlerinden farklıdır.
- ▶ Trombosit, fibrinojen ve pıhtılaşma faktörleri arasındaki etkileşimi analiz eder ve kanaması olan hastada hiperfibrinolizin tanısına da yardımcı olur.

Geleneksel Test-TEG iliřkisi

- ▶ Konvansiyonel koagölasyon testlerin yine de TEG parametreleri ile birebir karşılaştırılmalarının doğru olmadığı düşünölmektedir.
- ▶ Arteriyel ve venöz TEG ölçümleri arasında fark vardır.
- ▶ Çocukluk çağında ve yaşlanma ile beraber normal TEG aralıklarının değiştiği gösterilmiştir.
- ▶ Cinsiyet farkı

KLİNİK UYGULAMALAR

- ▶ Karaciğer transplantasyonu
- ▶ Kardiyovasküler cerrahi
- ▶ Obstetrik
- ▶ Travma ilişkili koagülopati (TİK)
- ▶ Protrombotik durumlar
- ▶ Hemofilide tedavi monitorizasyonu

Trombin jenerasyon (üretim) testleri (TGA)

- ▶ TGA testi ile bireyin trombin kapasitesi ölçülerek, hem yüksek trombin üretimi olan trombotik durumlar, hem de düşük trombin üretimi olan kanamaya eğilimli durumlar değerlendirilebilmektedir.

TGA

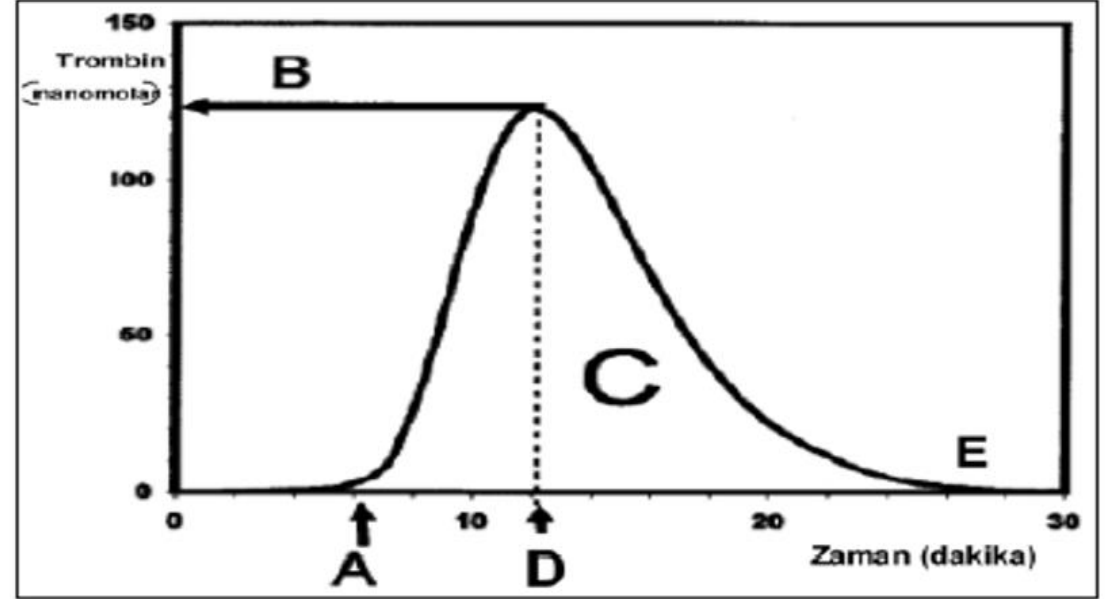
- ▶ TGA kullanımı ilk kez 1953'te tanımlanmıştır.
- ▶ PT ve aPTT trombin aktivitesini indirekt olarak ölçer ve total trombin üretiminin küçük bir kısmını saptar. Buna karşılık, TGA total trombin üretimini ölçer, genellikle floresans probalar kullanır, trombositlerin katkısını değerlendirmek için de PRP'de (trombositten zengin plazma) yapılabilir.

TGA

- ▶ Günümüzde, hemofili, inflamatuvar durumlar, venöz tromboemboli (VTE), preeklampsi ve kalp hastalıkları gibi birçok kanama hastalığı ya da protrombotik durumda kullanılabilmektedir.
- ▶ Henüz standardize olmaması, geniş inter- ve intra-laboratuvar değişkenliği majör kısıtlılığıdır.

TGA

- ▶ TGA testi ile bakılan parametrelerden grafiğin altında kalan alanın karşılık geldiği değer ETP olarak ifade edilmektedir. Tromboz riski, ETP'nin ölçülmesiyle değerlendirilmektedir.
- ▶ Duraklama zamanı ise pıhtılaşma zamanını gösterir ve hemofili, heparin kullanımı gibi kanamaya eğilimin arttığı durumlarda uzamaktadır.



TGA testi sonucunda elde edilen trombogram.

- A. Duraklama zamanı (lag zamanı): Trombin formasyonunun başladığı zaman, birimi dakikadır.
- B. Pik yüksekliği: Trombinin maksimum konsantrasyonu, birimi nanomolar trombindir.
- C. Endojen trombin potansiyeli (ETP): Trombogram eğrisinin altında kalan alan, birimi nanomolar trombin X dakikadır (nM×dk).
- D. Pik zamanı: Pik olması için gereken süre, birimi dakikadır.
- E. Kuyruk başlangıcı (start tail [ST]): Trombin üretiminin sona erdiği zaman, birimi dakikadır.

Geleneksel ve Yeni Koagülasyon Testlerinin Karşılaştırılması

- ▶ PT ve aPTT, plazmaya dayalı, sıklıkla koagülasyon kaskadındaki bozuklukları saptamak için kullanılan, altın standard testlerdir. PT ve aPTT testleri pıhtı oluşumunun sadece başlangıcını değerlendirir, ancak pıhtı oluşumu sürekli bir süreçtir.
- ▶ TGA, TEG ve aPTT waveform analizi, pıhtı oluşumunun kinetiğini ölçer ve hastanın in vivo hemostatik durumunu ve tedavi cevabını daha iyi yansıtabilir. Bu testlerin bazıları kan hücrelerinin hemostaza katkısını da değerlendirebilir.

Geleneksel ve Yeni Koagülasyon Testlerinin Karşılaştırılması

- ▶ Merkez lab.'da konvansiyonel koagülasyon testleri ile sonuç alınma zamanı 45–90 dakika iken (hedeflenmiş hemostatik tedavi sonuçlarını değerlendirmek için çok uzun bir süre),
- ▶ Tromboelastografi kullanıldığında bu süre 15-25 dakikaya inebilir, böylece zamanında ve hedefli koagülasyon tedavisi yapılabilir.

Geleneksel ve Yeni Koagülasyon Testlerinin Karşılaştırılması

- ▶ PT ve aPTT, pretest değişkenler tarafından sıklıkla etkilenir
- ▶ Kan alımı ile testin çalışılması arasında geçen süre de sonuçları etkileyebilir.
- ▶ Ayrıca, faktör aktiviteleri genellikle %30-40'ın altına düşmedikçe, PT/aPTT'de uzama saptanamamaktadır.

Geleneksel ve Yeni Koagülasyon Testlerinin Karşılaştırılması

- ▶ Yeni koagülasyon testlerinin daha uzun geçmişe, standardizasyona ve yaygın klinik kullanıma girmeden önce daha fazla kabul edilebilirliğe ihtiyacı vardır

Hemostaz Laboratuvarı ve Hemofili

Güncel gelişmeler

- ▶ Geleneksel baypass edici ajanların izlenmesi (aPCC-aktive protrombin kompleks konsantrasyonu, rFVIIa)
- ▶ Uzun etkili FVIII / IX konsantrasyonlarının izlenmesi
- ▶ Yerine koyma tedavisinden ziyade, yeni ilaçların izlenmesi

Geleneksel baypass ajanlarının laboratuvar takibi

- ▶ aPCC, FVIII/IX'in plazma seviyelerini deęiřtirmeden hemostatik etkinlięi elde eder
- ▶ Bu nedenle, infüzyon sonrası ölçümü FVIII / IX, aPCC etkinliğini izlemek için uygun değildir
- ▶ İnfüzyon sonrası FVII ölçümü, rFVIIa'yı izlemek için uygun olup olmadığı bilinmiyorsa:
 - ▶ Global pıhtılaşma deneyleri:
 - ▶ Tromboelastografi (tam kan)
 - ▶ Trombin jenerasyon (trombosit bakımından fakir veya trombosit bakımından zengin plazma)

Bypassing Ajanlarının İzlenmesi (Tran ve ark., 2015'e)

- ▶ Trombin üretimi, aPCC'ye, rFVIIa'dan daha fazla tepki verir.
- ▶ Tromboelastografi, hem aPCC'ye hem de rFVIIa'ya karşı duyarlıdır.
- ▶ Tromboelastografi, başucu cihazı olarak nispeten basittir

FVIII / FIX aktivitesini ölçmek için güncel yöntemler

- ▶ Tek aşamalı pıhtılaşma testi -
 - ▶ Hasta plazmasındaki FVIII / FIX'in, FVIII / IX eksikliği olan plazmanın aPTT'yi kısaltma kabiliyetine dayanır
- ▶ İki aşamalı pıhtılaşma testi (artık kullanılmamaktadır) –
 - ▶ Bazal Plazmada FVIII / IX'in, pıhtılaşma teknikleriyle ölçülen FXa üretme kabiliyeti üzerine dayanır
- ▶ Kromojenik tahlil
 - ▶ Sırasıyla, kromojenik tekniklerle ölçülen FXa'yı hasta plazmasında FVIII / IX'in üretme kabiliyetine dayanır

Uzun Etkili Faktörlerin İzlenmesi

- ▶ İnfüzyon sonrası ölçümlerde tek aşamalı pıhtılaşma veya kromojenik analizlerin kullanılmasına bağlı olarak sonuçlarda tutarsızlıklar bildirilmiştir.
- ▶ Tek aşamalı pıhtılaşma deneyleri, kullanılan APTT reaktifinin tipine göre farklı postinfüzyon sonuçları verebilir.

Replasman tedavisine dayanmayan ilaçlar

- ▶ Emicizumab - Rekombinant, humanize edilmiş iki spesifik antikor FIXa'yı FX'e bağlar, böylece FVIII atlanır
- ▶ Fitusiran - antitrombin ekspresyonunu azaltan ve böylece trombin oluşumunu artıran RNA girişim molekülü
- ▶ Concizumab - Humanize monoklonal anti-TFPI (anti doku faktör pathway inhibitörü), trombin oluşumunu artırır

Emicizumab'ın Laboratuvar İzlemesi

- ▶ Bu ilaç için laboratuvar izleme (yani doz ayarlaması) gerekli değildir
- ▶ Bununla birlikte, aktivitesinin değerlendirilmesi (konsantrasyon) özel durumlarda yararlı olabilir

Emicizumab'ın Etkisinin Ölçülmesi

- ▶ APTT
- ▶ FVIII aktivitesinin ölçümü:
 - ▶ Tek aşamalı pıhtılaşma deneyleri
- ▶ Emicizumab konsantrasyonunun ölçümü:
 - ▶ Modifiye tek aşamalı pıhtılaşma veya kromojenik analizler ve plazma kalibratörleri
- ▶ Global analizler
 - ▶ Trombin üretimi
 - ▶ Tromboelastografi

Sonuçlar

- ▶ Konvansiyonel bypass yapan ajanları izlemek hala zorlu bir iştir.
- ▶ Global pıhtılaşma deneyleri model deneylerdir.
- ▶ Klinik deneyim gereklidir
- ▶ Uzun etkili faktörlerin izlenmesi, ürün ve laboratuvar yöntemlerinin tipine dikkatle bakılmasını gerektirir.
- ▶ Kromojenik analizlere geçmek pragmatik bir çözüm olabilir

Sonuçlar

- ▶ Emicizumab plazma konsantrasyonu, emicizumab kalibratörleri ile kombinasyon halinde modifiye edilmiş bir aşamalı veya kromojenik analizler (insan reaktifleri) ile ölçülebilir
- ▶ Emicizumab hastalarında FVIII inhibitörü, sığır reaktifleri kullanan modifiye kromojenik test ile ölçülebilir

Emicizumab

- ▶ INR
- ▶ Fibrinojen düzeyi
- ▶ Protein C
- ▶ Protein S aktivitesini deęiřtirebilir.

Emicizumab

- ▶ Trombin zamanı
- ▶ Anti-trombin aktivitesi
- ▶ D-dimer
- ▶ VWF aktivitesini deęiřtirmez

Teşekkür ederim

