

B-Trombocyter aktivering (SKA01821)

Bakgrund, indikation och tolkning

Ärftliga trombocytrubbningar är en heterogen grupp av defekter i trombocyterna som kan leda till en ökad risk för mukokutana blödningar av olika svårighetsgrad.

Flera substanser har förmågan att aktivera trombocyter *ex vivo*, bl a adenosindifosfat (ADP), *thrombin receptor activator for peptide 6* (TRAP-6) samt *collagen-related peptide* (CRP).

ADP binder till receptorerna P2Y1 och P2Y12 på trombocyternas yta. P2Y1 förmedlar Ca²⁺-mobilisering, formförändring och startar aggregationen. P2Y12 gynnar formationen av stora stabila trombocyttagregat.

TRAP-6 är en syntetisk hexapeptid (SFLLRN) och motsvarar det segment som (efter klyvning av trombin) aktiverar trombocytens trombinreceptor, *protease-activated receptor-1* (PAR-1).

CRP-XL är en selektiv agonist för kollagenreceptorn *glycoprotein VI* (GPVI).

Vid aktivering aktiveras aggregationsreceptorn GPIIb-IIIa (CD41/CD61), trombocyten ändrar form och granula utsöndras. Ärftliga trombocytrubbningar kan vara orsakat av ändrad funktion av agonistreceptor, intracellulära signaleringsdefekter eller av frånvaro eller minskat utsöndring av granula i trombocyten.

Indikation för analysen är misstanke om ärftlig trombocytrubbning. För monitorering av läkemedelseffekt såsom ADP-receptorhämmare finns mer specifika analyser (se bla *P2Y12 hämning*). Analysen upptäcker inte alla trombocytrubbningar och har osäker specificitet. Beställning av analys sker företrädesvis av koagulationsmottagningens läkare och tolkning av svar sker i samråd med dessa.

Analysprincip

Trombocyter stimuleras med ADP, TRAP-6 samt CRP-XL. Effekten av dessa agonister mäts sedan som uttryck av P-selektin (CD62P), *lysosome-associated membrane glycoprotein 3* (LAMP-3, CD63), samt aktiverad GPIIb/IIIa på trombocyterna.

P-selektin (CD62P) är en adhesionsmolekyl som i vilande trombocyter är lagrad på den inre väggen av α -granula. Vid trombocytaktivering frisätts α -granula och P-selektin exponeras på ytan.

LAMP-3 (CD63) är lagrad i lysosomala och dense granular. CD63 blir exponerat på cellytan likartat CD62P, under trombocytaktiveringen.

GPIIb/IIIa (CD41/CD61) är ett integrinkomplex, också kallat integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$. Det är en receptor för fibrinogen (och von Willebrand faktorn). När trombocyterna blir aktiverade ändrar receptorn sin konformation där den monoklonala antikroppen **PAC-1** kan binda till den nu tillgängliga neoepitopen.

I vissa speciella fall kan det hända att man vill analysera patientprover med utökade spädningar på någon eller samtliga agonister. Det beror då oftast på att en patient har kallats in för ny provtagning till följd av avvikande eller svårtolkade resultat vid första analystillfället. I sådana fall görs samma spädningar som vid lotbyte eller spädningslotbyte av agonister (se nedan).

Referensintervall

Det ursprungliga referensintervallet på Navios är baserat på mätresultat från 20 normala individer (maj – augusti 2016). I samband med inkörningen av referensintervallet på CytoFlex uppdaterades samtidigt referensintervallet på Navios. Båda är baserade på mätresultat från 28 normala individer (190321 – 190814).

Referensintervallet på Navios inkört 190321-190814 (n=28)						Referensintervallet på CytoFlex inkört 190321-190814 (n=28)							
			Mean	SD	Mean-3SD	Mean-2SD				Mean	SD	Mean-3SD	Mean-2SD
PAC-1						PAC-1							
ADP	5		97	1,7	92	94	ADP	5		97	1,7	92	93
CRP-XL	20		98	1,6	93	94	CRP-XL	20		98	1,5	93	95
TRAP6	25		88	7,2	66	73	TRAP6	25		87	7,1	66	73
CD62P						CD62P							
ADP	5		85	8,2	61	69	ADP	5		86	8,3	61	69
CRP-XL	20		97	2,2	91	93	CRP-XL	20		97	2,1	91	93
TRAP6	25		95	5,0	80	85	TRAP6	25		95	4,9	80	85
CD63						CD63							
ADP	5		36	8,7	skall ej bedömas		ADP	5		31	8,5	skall ej bedömas	
CRP-XL	20		73	9,8	43	53	CRP-XL	20		68	10,0	38	48
TRAP6	25		74	10,8	41	52	TRAP6	25		69	10,3	38	49

I juni 2021 justerades referensintervallet på CytoFlex och är nu baserade på samtliga mätresultat från 68 individer (190321 – 210224).

Referensintervallet på CytoFlex inkört 190321-210224 (n=68)						
			Mean	SD	Mean-3SD	Mean-2SD
PAC-1						
ADP	5		97	1,6	92	93
CRP-XL	20		98	1,7	93	95
TRAP6	25		87	7,8	64	72
CD62P						
ADP	5		80	10,2	50	60
CRP-XL	20		97	2,3	90	93
TRAP6	25		93	6,4	74	80
CD63						
ADP	5		26	8,9	skall ej bedömas	
CRP-XL	20		69	9,5	41	50
TRAP6	25		68	11,9	32	44

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor

Om provet ej behandlats korrekt blir en hög andel trombocyter redan aktiverade i Resting-röret och provet kan ej bedömas. Läkemedel som påverkar trombocytfunktionen gör analys svårt

Metodbeskrivning

B-Trombocyter aktivering Flödescytometri, Specialkoagulation Malmö

Gäller för
Klinisk kemi

MA

svårbedömt. Dessa läkemedel innefattar bland annat P2Y12-hämmare (t.ex. klopidogrel, prasugrel och ticagrelor), *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID, t.ex. ibuprofen, acetylsalicylsyra, diklofenak) och *selective serotonin reuptake inhibitors* (SSRI, antidepressiva).

Mätområde

Ej applicerbart.

Detektionsgräns

Ej applicerbart.

Mätosäkerhet

Ej applicerbart.

Spårbarhet

Ej applicerbart.

Ackreditering

Metoden är ej ackrediterad.

Referenser

1. Bunescu A, Lundahl J, Söderström T, Lindahl T, Larsson A, Egberg N. Platelets. 1995;6(6):340-5.
2. Linden MD, Frelinger AL 3rd, Barnard MR, Przyklenk K, Furman MI, Michelson AD. Semin Thromb Hemost. 2004;30(5):501-11.
3. Jennings LK. Thromb Haemost. 2009 Aug;102(2):248-57.
4. Simon D, Kunicki T, Nugent D. Haemophilia (2008), 14, 1240–1249.