

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Dědičné trombofilie – doporučení k provádění genetických testů v klinické praxi

Jan Kvasnička

Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Trombotické centrum VFN, Centrální hematologické laboratoře, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky

SOUHRN

Žilní tromboembolická nemoc je stále velmi rozšířeným závažným onemocněním, ve kterém hrají důležitou úlohu i genetické faktory. Předmětem tohoto přehledu je shrnutí stávajících znalostí o dědičných trombofilích a úvest jejich zjednodušenou klasifikaci. Je zde také uvedeno Konsenzuální doporučení tří odborných společností – České společnosti pro trombózu a hemostázu, České hematologické společnosti a Společnosti pro lékařskou genetiku pro genetická testování u vybraných skupin nemocných s vysokým rizikem žilní tromboembolické nemoci.

Klíčová slova: trombofilie, dědičnost, genetické testy, doporučení.

SUMMARY

Kvasnička J. Hereditary thrombophilias – recommendations for genetic testing in the clinical praxis

Venous thromboembolism is a common serious clinical condition, in which genetic factors play an important role, too. The objective of this review is to summarize current knowledge regarding the hereditary thrombophilias and submit their simple classification. Recommended Consensus of the Czech Societies on Thrombosis and Haemostasis, Haematology and Medical Genetics for genetic testing in specific patients@ groups at venous thromboembolism high-risk situation is also presented.

Key words: thrombophilia, hereditary, genetic tests, guidelines.

Kv.

Čas Lék čes 2010; 149: xx–xxx

ÚVOD

Na komplikace žilní tromboembolické nemoci (TEN) umírá v současné době v Evropě asi 500 000 osob ročně. To je tedy 12 % z celkového počtu všech úmrtí, přičemž se jedná o onemocnění, kterému lze zabránit účinnou profylaxí. Z dalších epidemiologických dat vyplývá, že zde během jednoho roku dochází k 148 případům hluboké žilní trombózy a k 95 případům plicní embolie na každých 100 000 obyvatel, přičemž u hospitalizovaných nemocných je to asi 56 % ze všech diagnostikovaných případů TEN (1).

Vzhledem k závažnosti tohoto nejen medicínského problému je výzkumu patofyziologie, možnostem diagnostiky, prevence a léčby TEN věnována v posledních 50 letech stále větší pozornost v celém spektru medicínských oborů. Důležitým poznatkem tohoto vědeckého výzkumu je zjištění, že dispozice některých jedinců k hyperkoagulaci – trombofilii, která předchází vlastnímu procesu trombogeneze, je také dědičně závislá. V současné době lze již některou z dědičně podmíněných trombofilii prokázat u více než 50 % osob s TEN (2). To samozřejmě zvyšuje vyhlídky jak preventivními opatřeními (např. profylaxí antitrombotiky) zabránit u jedinců s trombofilii v zátěžové situaci vzniku TEN, pokud je budeme umět

s předstihem identifikovat.

DĚDIČNÉ TROMBOFILIE

Podle vyvolaných změn v oblasti hemostázy je můžeme rozdělit na několik podskupin.

Dědičné trombofilie podmíněné zvýšením produkce koagulačních faktorů, nebo inhibitorů fibrinolýzy

1. Bodová mutace v 3'-UTR (v nepřepisované oblasti) mRNA protrombinu (F2 G20210A), která vyvolá zvýšení produkce protrombinu (> 130 %) (3). Prevalence heterozygotů s nálezem mutované alely je v české populaci dle našich vyšetření 1450 dárců krve asi 2,48 % (ještě nepublikovaná data). U nemocných s již vzniklou žilní trombózou je tato mutace FII zjišťována asi v 6 %. Metoda detekce této trombofilie je genetická.

2. S žilní trombofilii je spojeno i zvýšení F VIII (více než 1500 j. / l, což je asi 150 % normálu). Je zde nalézána i určitá souvislost s krevním skupinovým systémem AB0. Jedinci

s krevní skupinou 0 mají méně F VIII než jedinci s A, B, nebo AB krevní skupinou (4). V případě zvýšení hladiny F VIII však nejde o bezvýznamnou trombofilii. Dle Rosendaala (5) je v populaci nalézána u 11 % osob a u 25 % nemocných s žilní trombózou. Relativní riziko vzniku žilní trombózy je zde zvýšeno asi 6×. Zvýšení F VIII je však většinou reaktivní, například po operaci, při zánětu, v graviditě apod. (6). Z klinického hlediska je však důležité zjištění, že i když je u osob s konstitutivně zvýšenou hladinou F VIII po prodělané žilní trombóze vysazena po 2 letech antikoagulační léčba, dochází u 37 % nemocných k jejímu opakování (7). Hladina F VIII je určována ELISA testy, nebo koagulačně

3. U jedinců s polymorfismem genu pro PAI-1 : 4G/4G je nalézáno primární zvýšení hladiny inhibitoru aktivátoru plazminogenu PAI-1. Zatím se zdá, že tento polymorfismus je spjat jen s vyšší incidencí tepenných trombóz. Odds ratio (OR) (poměr šancí) pro vznik žilní trombózy je jen lehce zvýšeno (OR 1,62) (8). V české populaci je prevalence homozygotů 4G/4G dle výsledků naší laboratoře 30,6 % (ještě nepublikovaná data). Metoda detekce je genetická, zatím je však toto vyšetření indikováno v Trombotických centrech ve speciálních případech jako vyšetření doplňující. Výše PAI-1 Ag je také určována ELISA testy.

4. U osob s polymorfismem G 455 – A genu pro beta řetězec fibrinogenu je zjištěna vyšší hladina fibrinogenu > 4 g/l (9). Ta však může být spjata i s vyšším věkem sledovaných osob, se zánětem nebo s hojivou reakcí po traumatu/operaci, ale také s ročním obdobím (zvýšení v zimě) nebo s graviditou. Fibrinogen je totiž proteinem akutní fáze (10). Hyperfibrinogenemie se proto v praxi určuje jen koagulačně.

5. U trombofilii s nálezem zvýšení FXI (11), nebo IX (12) je dědičný původ zatím sporný.

Další příčina žilní trombofilie – nedostatek některého z přirozených inhibitorů koagulace, nebo porucha jeho funkce

Jedná se zejména o geneticky podmíněné deficity nebo dysfunkce těchto inhibitorů koagulace:

Deficit nebo dysfunkce antitrombinu. Dědičný deficit antitrombinu se nevyskytuje často, jeho prevalence je v evropské populaci asi 0,02 %. U pacientů s TEN je však deficit antitrombinu nacházen u asi 1 % případů. Při své manifestaci je pak spojen se závažnějším klinickým průběhem TEN (13). Relativní riziko TEN je u probandů s deficitem antitrombinu zvýšeno 10@ (5).

Deficit nebo dysfunkce antitrombinu jsou způsobeny asi 92 různými mutacemi (ve 12 % se jedná o delece v oblasti 5qkonce) (14). Genetická vyšetření proto neprovádíme, určuje se výše aktivity a antigenu antitrombinu v plazmě.

Deficit nebo dysfunkce inhibitoru koagulace proteinu C (PC). Relativní riziko TEN je u probandů s deficitem PC asi 10× vyšší než u osob s normální hladinou PC. Výskyt dědičného deficitu PC je v evropské populaci asi 0,2–0,4 %. Deficit PC je pak nalézán asi u 3 % nemocných s TEN. Riziko vzniku TEN u osob s deficitem PC je asi 10× zvýšené (5). Genetická vyšetření zde neprovádíme, určuje se výše aktivity a antigenu PC v plazmě.

Deficit nebo dysfunkce inhibitoru koagulace proteinu S (PS). Prevalence deficitu PS je v evropské populaci asi 0,1–1,0 % a 1–5 % u nemocných se žilní trombózou. U jedinců s deficitem PS je nacházeno 5–10× vyšší riziko TEN (5). Vlivem zvýšení estrogenu dochází k poklesu PS (asi o 30 %) fyziologicky v těhotenství. Vyvolá jej i kombinovaná perorální kontracepce (10). Genetická vyšetření zde neprovádíme, určuje se výše aktivity volného PS, nebo antigenu PS v plazmě.

Dědičně podmíněná rezistence aktivovaného F Va vůči vlivu inhibitoru – aktivovanému proteinu C (tzv. APC rezistence). Je to způsobeno bodovou mutací (SNP) v genu pro koagulační faktor V, kterou je záměna nukleové base guaninu (G) za adenin (A) v nukleotidu 1691 (F5 G1691A). Ta způ-

sobí tvorbu variantní formy proteinu FV se záměnou aminokyselin argininu za glutamin (Arg506Gln). Vytvořený FV Leiden (FVL) se pak stává rezistentním vůči štěpení aktivovaným PC (15).

Dle našich vyšetření 1450 dárců krve je prevalence heterozygotů s mutací F V

Leiden v České republice asi 8,83 % (ještě nepublikovaná data). Homozygotů F V Leiden je

však méně, vypočteno asi 1/5000 obyvatel. Prevalence této mutace mezi nemocnými s TEN je však vysoká, až 40%. U nositelů Leidenské mutace FV vzniká sice až 7× vyšší riziko hluboké žilní trombózy, ale k TEN dochází jen tehdy, pokud se k tomuto defektu přidruží i další rizika (5). Těmi jsou například pooperační stav s nedokonalou profylaxí žilní trombózy, léčba estrogény, patologické těhotenství, obezita, imobilizace aj. Vzniklé žilní trombózy nejsou také většinou provázeny plicní embolií. Souvisí to zde s relativně nižším výskytem žilních trombóz v ileofemorální oblasti (16). Metoda detekce FVL je genetická (PCR reakce). Rezistenci FV vůči proteinu C je možné detekovat i koagulačně, nemusí být vždy spojena s mutací FV Leiden.

Hyperhomocysteinémie a zvýšení lipoproteinu (a) ve spojení s žilní, ale i s arteriální trombofilii

Z metabolických poruch je s žilní, ale i s arteriální trombofilii spojována hyperhomocysteinémie (koncentrace homocysteinu je vyšší než 18,5 $\mu\text{mol/L}$) a zvýšení lipoproteinu (a).

Hyperhomocysteinémie je primárně vyvolána mutací genu pro cystathion β -syntázu, nebo genu pro reduktázu methylen tetrahydrofolátu (MTHFR). Dysfunkce obou enzymů pak vede k blokování jak metabolismu methioninu, tak i homocysteinu. Mutace MTHFR se záměnou cytosinu 677 thyminem (C 677 T) se v homozygotní formě vyskytuje až u 8–10 % osob (17). Asociace mutace MTHFR se vznikem žilní trombózy je i v graviditě negativní (OR 0,75), proto se již dnes při pátrání po dispozici k TEN mutace MTHFR nevyšetřuje (18).

Druhotné zvýšení hladiny homocysteinu je pak možné pozorovat u osob s chronickým deficitem vitamínu B₁₂, kyseliny listové nebo vitamínu B₆ (pyridoxinu), způsobené jejich nedostatkem v potravě (10), hlavně u alkoholiků. Hyperhomocysteinémie je dále jako jeden z uremických toxinů nalézána u osob s renální insuficiencí (19).

Zvýšení apolipoproteinu (a), dále Lp(a), je především spojeno s protifibrinolytickým a proaterogenním vlivem. Souvisí s inhibicí vazby plazminogenu na povrchu endotelu, kde je vytěšňován apolipoproteinem (a), který má podobné složení molekuly jako plazminogen. Nadbytek Lp(a) pak zabraňuje potřebné tvorbě plazminu (20). V praxi se zatím určuje jen hladina homocysteinu nebo Lp(a). Genetická vyšetření jsou indikována jen ve speciálních případech, většinou ve spojitosti s aterosklerózou.

ZÁVĚR

Jak z uvedeného přehledu dědičných trombofilii vyplývá, je zatím potřeba provádět jejich detekci genetickými testy jen v několika málo případech. Cena za tato vyšetření je stále dosti vysoká, a proto by měla být genetická vyšetření trombofilii spojených s žilní TEN dle dnešních znalostí indikována jen ve vybraných případech, kde je již jejich praktický význam pro kliniku ověřen. Česká společnost pro trombózu a hemostázu ČLS JEP proto na vyzvání Společnosti pro lékařskou genetiku ČLS JEP vypracovala návrh uvádějící, které genetické testy a v jakých klinických situacích mají být tyto genetické testy indikovány v klinické praxi. Toto konsenzuální doporučení, které mimo již uvedené dvě odborné lékařské společnosti schválila dále i Česká hematologická společnost ČLS JEP, je uvedeno v tabulce 1.

Tab. 1. Molekulárně genetická vyšetření u trombofilních stavů spojených s žilním tromboembolismem a jeho komplikacemi (Konsensus České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP, Společnosti pro lékařskou genetiku ČLS JEP a České hematologické společnosti ČL JEP)

1. Tromboembolická nemoc (žilní trombóza a plicní embolie, dále TEN) je multifaktoriální onemocnění, a proto nelze při hodnocení rizika trombofilie v současné době vycházet jen z určení molekulárně genetických znaků.
2. Z molekulárně genetických vyšetření mají při pátrání po trombofilním stavu spojeného s TEN za dnešního stavu vědomostí zásadní klinický význam pouze určení: mutace FV Leiden (1691G>A) a mutace genu pro protrombin (20210G>A) (1)
3. Vyšetření těchto dvou genetických vyšetření doporučujeme zdravotnickým zařízením indikovat pouze selektivně:
a) před zahájením kombinované perorální hormonální kontracepce a/nebo hormonální substituční léčby estrogyny (HRT) u žen s pozitivní osobní anamnézou prodělané TEN, nebo s pozitivní rodinnou anamnézou výskytu TEN u příbuzných prvního stupně (matky, otce, vlastních sourozenců a dětí probanda), b) u osob se stavem po prodělané idiopatické TEN, při pátrání po vyvolávající příčině a kvůli rozhodování o délce antikoagulační léčby (viz doporučení 8. konsenzu ACCP (2)
c) u žen po opakovaných 3 potratech v 1. trimestru gravidity, nebo u každé ztráty plodu po tomto období gravidity
d) u těhotných žen: s pozitivní osobní nebo rodinnou anamnézou prodělané TEN (viz bod 3a), nebo s těmito komplikacemi v graviditě: při těžkých formách preeklampsie, retardaci plodu anebo po abrupci placenty
e) z jiných indikací po vyšetření v trombotickém centru. <i>Pozn.:</i> Při pozitivním záchytu uvedených mutací je vhodné provést tato vyšetření i u příbuzných prvního stupně, pokud se u nich vyskytují další rizika spojená s trombofilii. U dětí ale až po 12 letech jejich věku, pokud k tomu nejsou jiné důvody.
4. mimo vyšetření FV Leiden (1691G>A) a mutace genu pro protrombin (20210G>A) jsou vyšetření jiných polymorfismů, spojovaných s TEN indikována ve vybraných případech pouze trombotickými centry, nebo Ústavem hematologie a krevní transfuze v Praze.
5. Molekulárně genetická vyšetření spojená s TEN provádějí pouze laboratoře s ověřenou, 1× ročně prováděnou externí kontrolou kvality provedenou Referenční laboratoří ÚHKT, nebo jinou mezinárodně uznávanou referenční laboratoří, například INSTAND, UKNEQUAS aj. Dalším předpokladem je dokumentovaná pravidelná vnitřní kontrola kvality u každé série vyšetření.

Literatura

1. **Wu O, Robertson L, Twaddle S, et al.** Screening for thrombophilia in high-risk situations: systematic review and cost-effectiveness analysis. *The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS)*. *Health Technol Assess*, 2006; 10(11) : 1–110.
2. Antithrombotic and thrombolytic therapy, 8th Ed: ACCP Guidelines. *Chest* 2008; 133(Suppl): 67–968.

Zkratky

A	– adenin
G	– guanin
FXI	–
FVL (FV Leiden)	
Lp(a)	– apolipoproteinu (a)
mRNA	–
OR	– odds ratio
PAI-1	–
PC	– proteinu C
SNP	– bodová mutace
TEN	– tromboembolická nemoc

6. **Mansvelt EP, Faffan M, McVey JH, Tuddenham EG.** Analysis of F 8 gene in individuals with high plasma factor VIII: C levels and associated venous thrombosis. *Thromb Haemostas* 1998; 80: 561–565.
7. **Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, et al.** High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000; 243: 457–462.
8. **Gohil R, Peck G, Sharma P.** The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemostas* 2009; 102: 360–370.
9. **Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, et al.** A common mutation (G455-A) in the -fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. *J Clin Invest* 1997; 99: 3034–3038.
10. **Kvasnička J, Kvasnička J jr.** Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi. Praha: Grada Publishing 2003; s. 300.
11. **Meijers JCM, Tekelenburg WLH, Bouma BN, et al.** High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000; 342: 696–701.
12. **van Hylckama V, Lieg A, van der Linden IK, et al.** High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood* 2000; 95: 3678–3682.
13. **Geerts WH, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, Lassen MR, Colwell CW; American College of Chest Physicians.** Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133(Suppl): 381–453.
14. **Beauchamp NJ, Makris M, Preston FE, et al.** Major structural defects in the antithrombin gene in four families with type I antithrombin deficiency. Partial /complete deletions and rearrangement of the antithrombin gene. *Thromb Haemost* 2000; 83: 715–721.

LITERATURA

1. **Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA, et al.** Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost* 2007; 98: 756–764.
2. **Cushman M.** Epidemiology and risk factors for venous thrombosis. *Semin Hematol* 2007; 44: 62–69.
3. **Port SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al.** A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698–3703.
4. **Sousa NC, Anicchino-Bizzacchi JM, Locatelli MF, Castro V, Barjas-Castro ML.** The relationship between ABO groups and subgroups, factor VIII and von Willebrand factor. *Haematologica* 2007; 92: 236–239.
5. **Rosendaal FR.** Venous thrombosis : a multicausal disease. *Lancet* 1999; 353: 1167–1173.

15. **Bertina RM, Koeleman PC, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH.** Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64–67.
16. **Bjrgell O, Nilsson PE, Nilsson J-A, et al.** Location and extent of deep vein thrombosis in patients with and without FV : R 506Q mutation. *Thromb Haemost* 2000; 83: 648–651.
17. **Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al.** A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111–118.
18. **Wu O, Robertson L, Twaddle S, et al.** Screening for thrombophilia in high-risk situations: systematic review and cost-effectiveness analysis. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS). *Health Technol Assess* 2006; 10 (11): 1–110.
19. **Morris ST, Jardine AG.** The vascular endothelium in chronic renal failure. *J Nephrol* 2000; 13: 96–105.
20. **Bauer KA.** The hypercoagulable states. In: *Disorders of hemostasis*. Ratnoff OD, Forbes ChD eds. Philadelphia: Saunders Co 1996; s. 228–258.

Vypracováno za podpory VZ MZO VFN 2005.