



FN MOTOL

# Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG



## Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://www.fnmotol.cz/ublgl>

### Trombofilní stavy

Za trombofilní stav považujeme zvýšenou tendenci ke vzniku trombóz a jejich recidivám. Trombofilie může být dědičná či získaná, případně kombinované etiologie. Jejich nejvýznamnější klinickou manifestací je tromboembolická nemoc (hluboká žilní trombóza a plicní embolie).

Laboratoř vyšetřuje Leidenskou mutaci v genu pro faktor V, mutaci 20210G>A ve 3' netranslatované oblasti genu pro koagulační faktor II a variantu 677C>T a variantu 1298A>C v genu pro metylenetetrahydrofolátreduktázu (MTHFR).

**Leidenská mutace v genu pro faktor V** (1691G>A, R506Q, OMIM 612309.0001) patří mezi časté hereditární trombofilní predispozice (populační frekvence v evropské populaci asi 5 %). Leidenská mutace v genu pro faktor V má za následek vznik molekuly koagulačního faktoru se záměnou aminokyseliny argininu za glutamin v konzervovaném štěpném místě pro antikoagulačně působící aktivovaný protein C. Nosiči této mutace v heterozygotní konstituci mají 5-10× zvýšené riziko hluboké žilní trombózy, homozygoti mají 50-100× zvýšené riziko. Nicméně absolutní celoživotní riziko je nízké – jen asi 10 %, většina heterozygotů tak prožije život bez jakékoliv trombotické komplikace.

**Mutace 20210G>A ve 3' nekódující oblasti genu pro protrombin** (koagulační faktor II, OMIM 176930.0009) má populační frekvenci v ČR asi 2 %, a patří mezi významné protrombogenní hereditární rizikové faktory. V heterozygotní konstituci zvyšuje riziko hluboké žilní trombózy přibližně 2,8× a cévní mozkové příhody cca 1,4×. Velmi vzácná homozygotní konstituce je spojena s mnohonásobně zvýšeným rizikem trombózy.

**Varianta 677C>T (Ala222Val) v genu pro metylenetetrahydrofolátreduktázu** (MTHFR, OMIM 607093.0003) je asociovan s vyšší termolabilitou tohoto enzymu a tím i jeho sníženou aktivitou. Má velmi vysokou populační frekvenci v ČR (asi 35 %) a diskutabilní vliv – velmi mírně zvyšující riziko trombózy při normálním příjmu kyseliny listové a normální hladině homocysteinu v séru.

**Varianta 1298A>C (Glu429Ala) v genu pro metylenetetrahydrofolátreduktázu** (MTHFR, OMIM 607093.0004) vede rovněž k nižší aktivitě tohoto enzymu, zvláště u homozygotů pro tuto variantu, případně u složených heterozygotů s variantou 677C>T.

**Inhibitor aktivátoru plasminogenu – 1 (PAI-1)** je důležitým inhibitorem fibrinolytického systému, primárním inhibitorem plasminogenového aktivátoru v plasmě, rychle inaktivujícím jak tkáňový plasminogenový aktivátor (t-PA), tak urokinázový typ plasminogenového aktivátoru (u-PA). Gen pro PAI-1 má několik variant, včetně 4G/5G delece/inzerce guaninu 675 bp od začátku promotoru. Polymorfismus 4G/5G ovlivňuje vazbu nukleárních proteinů, které se účastní regulace PAI-1 genové transkripce, s vyšší úrovní PAI-1 syntézy asociované s 4G/5G genotypem. Poprvé byla tato varianta popsána Dawsonem v roce 1993. Varianta 4G/5G byla intenzivně studována, prevalence 4G alely byla vyšší u chorob jako např. onemocnění koronárních artérií, meningokokový septický šok, osteonekróza, těžká pre-eklampsie, typ 2 – diabetická nefropatie, plicní tromboembolismus a arteriální trombóza asociovaná s deficiencí proteinu S. Naopak 5G alela byla asociovaná s familiární formou abdominálního aortálního aneurysmatu. Přítomnost 4G alely může (signifikantně) zvýšit riziko trombózy, nejvyšší riziko však představuje pro pacienty s trombózou vnitřních orgánů, především s trombózou portální žíly.

Ústav biologie a lékařské genetiky od 1. 9. 2017 **přijímá indikace k vyšetření polymorfismu PAI-1 4G/5G pouze v případě, že indikujícím je lékař některého z trombotických center**, která jsou pouze při VFN Praha, FN Hradec Králové, FN Plzeň, FN Brno – Bohunice, FN Ostrava, FN Olomouc.

### Indikační kritéria

1. Před zahájením kombinované perorální hormonální kontracepce a/nebo hormonální substituční léčby estrogeny ( 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).
2. U osob se stavem po prodělané idiopatické TEN, při pátrání po vyvolávající příčině a kvůli rozhodování o délce antikoagulační léčby.
3. U žen po opakovaných 3 potratech v 1. trimestru gravidity, nebo u každé ztráty plodu po tomto období gravidity.
4. U těhotných žen s pozitivní osobní nebo rodinnou anamnézou prodělané TEN (viz bod 1), nebo při těžkých formách preeklampsie, retardaci plodu či po abrupci placenty.
5. Jiné indikace po vyšetření v trombotickém centru.

Pozn. 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.



FN MOTOL

# Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

## Laboratoře ÚBLG

### Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://www.fnmotol.cz/ublg/>

## Analytické metody

Metoda	Detekované mutace/polymorfismy
Stanovení trombofilních markerů metodou alelově specifické amplifikace a fragmentační analýzy pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	FII 20210G>A, FV 1691G>A/R506Q, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C
Molekulárně genetické vyšetření metodou sekvenování PCR produktu	PAI-1 4G/5G, MTHFR 1298A>C

## Doby odezvy vzorků

Metoda	Doby odezvy vzorků (pracovní dny)	
	Běžně	Statim
Trombofilní markery metodou alelově specifické amplifikace a fragmentační analýzy pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	15	10
PAI-1 4G/5G a MTHFR 1298A>C sekvenování PCR produktu	25	10

### Kontaktní informace

#### Oddělení lékařské molekulární genetiky

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol  
V Úvalu 84, Praha 5,  
150 06

4. patro G  
**Centrální příjem vzorků:**  
Po – Pá  
7:30h – 14.30h

### Požadavky na vzorek

**Krev – 5 ml do K<sub>3</sub>EDTA** (novorozenci 1 ml, děti 1-2 ml)

**Izolovaná DNA – 50-300 ng/μl** v množství 20-30 μl

**Vzorek označit** minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.

### Odkazy

**Transport vzorku** musí respektovat maximální dobu stability vzorku - viz Laboratorní příručka ÚBLG. Transport vzorku poštou musí vyhovět požadavkům České pošty.