



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V úvalu 84/1, 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 variantu v genu *F5* pro koagulační faktor V (tzv. Leidenská mutace), variantu 20210G>A ve 3' netranslatované oblasti genu *F2* pro koagulační faktor II (tzv. protrombinová mutace), varianty 677C>T a 1298A>C v genu pro metylenetetrahydrofolátreduktázu (*MTHFR*) a variantu 4G/5G v genu *SERPINE1* (dříve *PAI1*).

Tzv. Leidenská mutace v genu *F5* pro koagulační faktor V (1691G>A, R506Q, OMIM 612309.0001) patří mezi časté hereditární trombofilní predispozice (populační frekvence v evropské populaci asi 5 %). Tato varianta 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 varianty v heterozygotní konstituci mají 5–10× zvýšené riziko hluboké žilní trombózy, homozygoti pak 50–100× zvýšené riziko. Nicméně absolutní celoživotní riziko je nízké – jen asi 10 %, většina heterozygotů tak prožije život bez jakékoli trombotické komplikace.

Varianta 20210G>A ve 3' nekódující oblasti genu *F2* 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 asociována 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 typ 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). V genu pro PAI-1 (*SERPINE1*) existuje několik popsáných 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 preeklampsie, typ 2 – diabetická nefropatie, plicní tromboembolismus a arteriální trombóza asociovaná s deficiencí proteinu S. Naopak 5G alela byla asociována 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.

Dle současných mezinárodních doporučení i doporučení Společnosti lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP mají být z výše uvedených rutinně testovány pouze varianty v genu pro faktor V a faktor II. V případě záchytu některé z těchto dvou variant je výsledek ověřován další nezávislou metodou (sekvenace dle Sangera) a výsledek je vydán až po tomto ověření.

V používaném kitu pro fragmentační analýzu jsou obsaženy i obě varianty genu *MTHFR*, výsledky testování těchto variant nebudou uváděny v závěrečných zprávách, pokud tak nebude požadováno v indikaci. Jsou však případně k dispozici na vyžádání.

Ústav biologie a lékařské genetiky od 1. 9. 2017 **přijímá indikace k vyšetření polymorfismu PAI-1 4G/5G pouze v případech, 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.



FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole

V úvalu 84/1, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG



ústav biologie a lékařské genetiky

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

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

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

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 trombofilií. U dětí ale až po 12 letech jejich věku, pokud k tomu nejsou jiné důvody.

Analytické metody

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

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doby odezvy (pracovní dny):	
	Běžně	Statim
Trombofilní markery metodou alelově specifické amplifikace a fragmentační analýzy pomocí diagnostické soupravy (CE IVD kit)	25	15
PAI-1 4G/5G a FII 20210G>A, FV 1691G>A/R506Q, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C sekvenování dle Sangera	25	10

Kontaktní informace

Oddělení lékařské molekulární genetiky

4. patro, G

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol

V úvalu 84/1, Praha 5,

150 06

Centrální příjem vzorků:

Po–Pá

7:30 až 14:30h

Požadavky na vzorek

Krev: min. 4 ml do K₃EDTA (novorozenci 1–2 ml, děti 1–2 ml)**Izolovaná DNA:** koncentrace 50–300 ng/μl v množství 20–30 μl**Vzorek označit** minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.

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